

N° D'ORDRE :
2383.

N° DE SÉRIE :
1517.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

JACQUES RABATÉ.

SOUS-DIRECTEUR AU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE.

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude biochimique
des « Salicacées »**

2^e Thèse : **Proposition donnée par la Faculté.**

Soutenues le **5 DECE 1934** novembre 1934 devant la Commission d'Examen.

Président : MM. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. JAVILLIER.
R. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1934

N° D'ORDRE :

2383.

N° DE SÉRIE :

1517.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

JACQUES RABATÉ,

SOUS-DIRECTEUR AU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE.

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude biochimique
des « Salicacées ».**

2^e Thèse : **Proposition donnée par la Faculté.**

Soutenues le **5 DECE 1934** novembre 1934 devant la Commission d'Examen.

Président : MM. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. JAVILLIER.
R. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1934

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.
Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

<i>Professeurs honoraires.</i>	{	H. LE CHATELIER.	Léon BRILLOUIN.
		H. LEBESGUE.	E. GOURSAT.
		A. FERNBACH.	WALLERANT.
		A. LEDUC.	GUILLET.
		EMILE PICARD.	PÉCHARD.
		Rémy PERRIER.	FREUNDLER.

PROFESSEURS

G. BERTRAND.....	T	Chimie biologique.	A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
M. CAULLERY.....	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	A. DUFOUR.....	T Physique (P. C. B.).
G. URBAIN.....	T	Chimie générale.	L. DUNOYER.....	Optique appliquée.
Emile BOREL.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathém.	A. GUILLIERMOND.	T Botanique (P. C. B.).
Jean PERRIN.....	T	Chimie physique.	M. JAVILLIER.....	Chimie biologique.
H. ABRAHAM.....	T	Physique.	L. JOLEAUD.....	Paléontologie.
E. CARTAN.....	T	Géométrie supérieure.	ROBERT LÉVY.....	Zoologie.
M. MOLLIARD.....	T	Physiologie végétale.	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. LAPICQUE.....	T	Physiologie générale.	Henri VILLAT.....	T Mécanique des fluides et applications.
E. VESSIOT.....	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	Ch JACOB.....	T Géologie.
A. COTTON.....	T	Physique.	P. PASCAL.....	T Chimie minérale.
J. DRACH.....	T	Analyse supérieure et algèbre supérieure.	M. FRÉCHET.....	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
Charles FABRY.....	T	Physique.	E. ESCLANGON.....	T Astronomie.
Charles PÉREZ.....	T	Zoologie.	M ^{me} RAMART-LUCAS.	Chimie organique.
Léon BERTRAND.....	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	H. BÉGHIN.....	T Mécanique physique et expérimentale.
E. BLAISE.....	T	Chimie organique.	FOCH.....	Mécanique expérimentale des fluides.
R. LESPIEAU.....	T	Théories chimiques.	PAUTHENIER.....	Physique (P. C. B.).
P. PORTIER.....	T	Physiologie comparée.	DE BROGLIE.....	T Théories physiques.
E. RABAUD.....	T	Biologie expériment.	CHRÉTIEN.....	Optique appliquée.
N.....	T	Chimie appliquée.	P. JOB.....	Chimie générale.
M. GUICHARD.....		Chimie minérale.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Paul MONTEL.....	T	Théorie des fonctions et théorie des transformations.	PRENANT.....	Zoologie.
P. WINTREBERT.....	T	Anatomie et histologie comparées.	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM.....	T	Botanique.	BOHN.....	Zoologie (P. C. B.).
O. DUBOSCQ.....	T	Biologie maritime.	COMBES.....	Sciences naturelles (P. C. B.).
G. JULIA.....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	GARNIER.....	Calcul différentiel.
C. MAUGUIN.....	T	Minéralogie.	PÉRÈS.....	Mécanique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY.....		Pétrographie.	HACKSPILL.....	Chimie (P. C. B.).
H. BÉNARD.....	T	Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER.....	Physiologie générale.
A. DENJOY.....	T	Calcul différentiel et calcul intégral.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique.
L. LUTAUD.....	T	Géographie physique et géologie dynamique.	M. CURIE.....	Physique (P. C. B.).
Eugène BLOCH.....	T	Physique théorique et physique céleste.	G. RIBAUD.....	T Hautes températures.
G. BRUHAT.....		Physique.	CHAZY.....	Mécanique rationnelle.
E. DARMOIS.....		Physique.	GAULT.....	Chimie (P. C. B.).
			CROZE.....	Physique.
			DUPONT.....	Chimie (P. C. B.).
			LANQUINE.....	Géologie.

Secrétaire..... A. PACAUD
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

EDMOND RABATÉ

MEMBRE DE L'ACADÉMIE D'AGRICULTURE
DIRECTEUR DE L'INSTITUT AGRONOMIQUE.

A LA MÉMOIRE DE MON MAÎTRE

MARC BRIDEL

PROFESSEUR AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE
PHARMACIEN DES HÔPITAUX.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND,

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE ET DE L'ACADÉMIE D'AGRICULTURE

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR.

Hommage respectueux et reconnaissant.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550222_0055

A MA FEMME ET A MES ENFANTS

Témoignage de mon affection.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION.....	11
MÉTHODES GÉNÉRALES.	
Choix du matériel d'étude....	15
Analyse biochimique.....	16
Essais d'extraction.....	22
Propriétés comparées de quelques hétérosides.	
Salicoside.....	27
Picéoside ..	29
Hétérosides flavonoliques.....	34

PREMIÈRE PARTIE.

Etude chimique des Salicacées.

<i>Salix daphnoides</i> Vill.	35
<i>Salix pentandra</i> L.	40
<i>Salix incana</i> Schrank.	44
<i>Salix caesia</i> Vill	46
<i>Salix hastata</i> L.	48
<i>Salix nigra</i> Marsch.	50
<i>Salix helvetica</i> Vill.	51
<i>Salix herbacea</i> L.	52
<i>Salix purpurea</i> L.	53
Etude des feuilles.	54
Le flavopurposide.	56
Etude des rameaux	60
Le salipurposide.	65
L'isosalipurposide	75
Rapports du salipurposide avec le naringoside et l'isohesperidoside	80
<i>Salix nigricans</i> Sm.	85
<i>Salix glauca</i> L.	93

<i>Salix phylicifolia</i> L.	99
<i>Salix grandifolia</i> Ser.	100
Ecorce de saule noir.....	101
<i>Salix cinerea</i> L.	102
<i>Salix reticulata</i> L.	103
<i>Salix retusa</i> L.	105
<i>Salix serpyllifolia</i> Scop.	109
<i>Salix triandra</i> L.	111
<i>Salix arbuscula</i> L.	113
<i>Salix repens</i> L.	116
<i>Populus nigra</i> L.	128
<i>Populus tremula</i> L.	131
Tableau récapitulatif.	135
Répartition de quelques hétérosides chez les Salicacées	139

SECONDE PARTIE.

Etude physiologique des hétérosides et des ferments des Salicacées

Examen critique des travaux de A. D. Jowett et C. E. Potter.....	143
Exposé des travaux de Th. Weevers.....	147
Discussion des travaux de Th. Weevers	150
Etude des ases du <i>Salix purpurea</i> L.	155
I. Hydrolases.....	156
Action des poudres fermentaires de feuilles sur le salicoside.	157
Action des poudres fermentaires de feuilles sur les hétéro- sides β	161
Sur l'hydrolyse du salicoside par la poudre fermentaire de feuilles de <i>Salix Purpurea</i> L. et sur quelques phénomènes qui en dérivent.....	165
II. Oxydases.....	194
Oxydation de différents phénols.....	199
Noircissement des feuilles de <i>Salix purpurea</i> L. et de nom- breuses Salicacées	202
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	204

INTRODUCTION.

En 1830, un pharmacien français, LEROUX, découvre dans l'écorce de *Salix Purpurea*, variété *Helix*, un produit nouveau, la *salicine* (salicoside) [*Ann. Chim. Phys.*, 1830, 43, 440]. Cette découverte suscite immédiatement des recherches actives et plusieurs auteurs étudient les Salicacées et leur teneur en salicoside.

Hantés par les mémorables travaux de PELLETIER et CAVENTOU sur la quinine, les premiers chercheurs, ont pensé que le produit retiré des saules se rangeait dans la même classe que cet alcaloïde : d'ailleurs, le salicoside jouit de propriétés antithermiques qui l'ont fait utiliser dans le traitement de certaines fièvres et comme falsification de la quinine destinée aux usages thérapeutiques.

La nature chimique exacte du salicoside ne fut établie que bien plus tard par PIRIA [*Ann. Chim.*, 56, 35, 1845].

Après avoir fourni l'objet d'un grand nombre de recherches, l'étude des salicacées est tombée dans un demi-sommeil d'où n'émergent que quelques travaux dont nous ferons plus loin l'analyse.

Nous avons été frappés, dès l'abord, par l'extrême confusion qui règne parmi les conclusions des divers auteurs. Donnons en quelques exemples : BRACONNOT, [*Ann. Chim.*, 1830, 44, 296-308, 513], recherche le salicoside dans les feuilles et les écorces de *Salix daphnoïdes* et conclut à son absence. JOHANNSON [DISSERT-DORPAT, 1875] arrive à la même conclusion, alors que WIDEMANN [*Pharm. Zentr.*, 1831, 643] en retire le salicoside. HERBERGER [*Pharm. Zentr.*, 1836, 428] et BRACONNOT isolent le salicoside du *S. amygdalina* alors que DUFLOS [*Pharm. Zentr.* 1833, 232] ne peut le caractériser, etc...

Nous pourrions citer de nombreux autres exemples de ces contradictions que nous essaierons d'expliquer.

Ce manque de renseignements exacts et, de plus, les résultats des travaux préliminaires effectués il y a quelques années, m'ont incité à reprendre l'étude des constituants glucidiques de la famille des Salicacées. Nous pensions avoir la possibilité

d'analyser la plus grande partie des espèces françaises, mais nous avons dû renoncer à ce projet.

En effet, après l'analyse de quelques espèces, nous avons été attirés par l'étude physiologique du rôle des hétérosides dans les végétaux ; et, si nos résultats ne permettent pas de construire quelque hypothèse sur cet intéressant problème, du moins peuvent-ils écarter de l'esprit certaines conclusions, jusqu'alors classiques, que de gros défauts de technique entachent fortement. Espérons que le rôle destructeur de ce travail nous permettra, par la suite, d'asseoir sur des bases solides, une expérimentation susceptible d'aborder l'étude physiologique de certains hétérosides chez les végétaux.

Nous décrirons tout d'abord les techniques générales utilisées, puis, nous aborderons l'étude spéciale de 28 espèces de Salicacées. Non seulement nous n'avons pu étudier toutes les espèces de France, mais encore, dans l'étude de chaque espèce, il nous est souvent arrivé de signaler des faits intéressants sur lesquels nous n'avons pu nous appesantir : des recherches ultérieures compléteront cet exposé.

En possession des documents analytiques recueillis au cours de cette longue expérimentation, nous aborderons, dans la seconde partie de ce travail la discussion des travaux de physiologie végétale effectués sur le genre *Salix*.

Je ne saurais terminer cette introduction sans acquitter ici une lourde dette de reconnaissance envers les maîtres qui m'ont guidé. Mon premier maître en science fut mon Père qu'un accident a ravi brutalement à notre affection. Il m'a toujours mis en garde contre l'hypothèse mal étayée par l'expérience : ce n'est que pur jeu de l'esprit et le savoir s'en encombre. C'est également par lui que j'appris à connaître les plantes et à aimer leur étude. Mon esprit ne pouvait mieux être formé qu'au contact de cette grande expérience et de cette simple bonté.

C'est à MARC BRIDEL que je dois ma formation scientifique. Dès notre première rencontre, s'est formé entre nous un lien tacite, une communauté de pensées qu'aucun dissentiment n'a jamais terni. Ce maître bienveillant et droit m'a initié à la recherche ; sous sa direction, j'ai appris les techniques précises dont il avait vu la naissance et qu'il avait perfectionné : mais je lui suis reconnaissant de m'avoir toujours laissé libre d'effectuer telle expérience sur un mode qu'il n'approuvait pas complète-

ment ; il savait que l'expérience personnelle compte pour beaucoup au début de la recherche scientifique. La mort a terrassé soudainement ce grand travailleur au moment où ses recherches allaient atteindre leur complet épanouissement.

Douloureusement frappé à quelques mois d'intervalles par la disparition de mon Père et de mon Maître, je dois aux amis sincères de MARC BRIDEL d'avoir pu continuer la tâche entreprise. Monsieur le Professeur Gabriel BERTRAND m'a toujours réservé le plus bienveillant accueil ; les élèves de notre laboratoire ont vu, grâce à lui, leur tâche facilitée. Je le prie de croire à notre bien sincère reconnaissance.

Je remercie bien vivement Messieurs les Professeurs J. BOUGAULT, H. HÉRISSEY et R. FABRE qui se sont toujours intéressés à mes recherches et m'ont souvent aidés de leurs conseils.

Que Madame RAMART-LUCAS, Professeur à la Sorbonne, qui m'a initié aux recherches spectrophotométriques et m'a montré tout le parti que l'on en peut tirer, veuille bien accepter l'assurance de ma respectueuse gratitude.

C'est grâce à Monsieur CHARAUX que j'ai pu mener à bien l'étude du *Salix purpurea*. Que ce chercheur passionné et désintéressé reçoive l'assurance de ma profonde admiration pour ses travaux et ma reconnaissance pour tous les précieux enseignements dont il m'a fait profiter.

Les déterminations des arbustes du genre *Salix* sont des plus difficiles : je ne pouvais mieux m'adresser qu'à Monsieur PONS, le botaniste briançonnais bien connu, qui m'a guidé dans les Alpes à la recherche des espèces rares et m'a fait connaître la flore si variée de ces belles montagnes.

MÉTHODES GÉNÉRALES.

Nous avons toujours employé deux méthodes de recherche des hétérosides : la méthode biochimique classique de BOURQUELOT, et la méthode consistant à extraire l'hétéroside de la plante. Si la méthode biochimique nous fournit des renseignements précieux, elle ne se traduit le plus souvent que par des présomptions : l'extraction d'un produit pur confirme les résultats obtenus par la méthode biochimique et nous donne une certitude.

Nous décrirons successivement, le choix du matériel d'étude et sa récolte, son traitement, l'analyse par la méthode biochimique et, enfin, les procédés d'extraction et caractérisation que nous avons utilisés.

Choix du matériel d'étude.

Cette question présente une importance capitale pour l'étude des Salicacées. En effet, cette famille est *très homogène* : il est facile de distinguer le genre *Salix* du genre *Populus*, mais il est beaucoup moins aisé de discerner entre elles les différentes espèces du genre *Salix*. De plus, les Salicacées croissent en général dans les lieux humides où elles sont étroitement localisées et mêlées les unes aux autres : aussi l'hybridation des espèces de plaine est-elle très fréquente ; la détermination des hybrides est un travail de spécialiste et cette œuvre est parfois bien décevante.

Les résultats contradictoires obtenus par les nombreux auteurs qui ont recherché le salicoside dans les Salicacées tient, à notre avis à une détermination défectueuse de l'espèce analysée.

Nous avons cherché à n'employer que des espèces aussi *typiques* et aussi *pures* que possible : nous avons effectué de nombreuses déterminations par toute la France (environs de Paris, embouchure de la Seine, Bretagne, Anjou, Orléanais, Berry, Massif-Central, Pyrénées et surtout Alpes du Briançonnais).

Les variétés et les hybrides ont été parfois recueillies et analysées ; leur étude ne figure pas dans le présent travail.

Nous avons recherché quel caractère nous permet une iden-

tification facile : les flores classiques (Abbé H. COSTES, flore complète de BONNIER) renferment des clés qui doivent permettre la discrimination des espèces : celle-ci est assez facile pour les saules de montagne qui portent en même temps les feuilles et les châtons ; il n'en est pas de même pour les espèces de plaine dont les châtons apparaissent de très bonne heure, mûrissent rapidement et sont le plus souvent désagrégés avant que les feuilles n'aient atteint leur développement normal. Force est donc, pour ces dernières espèces, d'effectuer de nombreuses récoltes à intervalles rapprochés, pour être en mesure de déterminer l'échantillon exactement.

Au début de chaque étude, nous donnerons seulement le ou les caractères que nous considérons comme les plus faciles et les plus sûrs à une bonne détermination. Ainsi pour le *Salix Purpurea* le caractère typique consiste en la disposition des feuilles qui sont *toutes opposées*. Les autres Salicacées et les nombreux hybrides de cette espèce ne présentent qu'exceptionnellement quelques feuilles opposées. La teinte jaune d'or du parenchyme cortical et du liber des écorces âgées de *S. Daphnoides* est un caractère excellent, etc... Ces caractères ne suffisent pas pour une détermination, mais ils nous ont grandement facilité la tâche.

Le lieu et l'époque de la récolte figurent au début de chaque étude. Nous désirions étudier la composition chimique de la plante en état de repos, pendant l'hiver, et à divers stades de la végétation : ce travail n'a pu être fait étant donné la difficulté de récolte des espèces analysées. En général, on a avantage, si l'on désire extraire les hétérosides, à effectuer les prélèvements en fin de végétation.

Les tiges et les troncs sont en général très riches en hétérosides qui s'accumulent au cours de la végétation ; ceci, d'ailleurs, n'a rien d'absolu ; des essais comparatifs permettent seuls de fixer exactement l'époque de récolte la plus favorable.

Analyse biochimique.

La méthode biochimique mise en œuvre par Em. BOURQUELOT pour l'étude et le dosage de divers glucides dans les plantes a servi à M. H. HÉRISSEY et M. BRIDEL à la recherche de nombreux hétérosides. M. BRIDEL et M. C. CHARAUX ont étendu cette méthode aux primevérosides par l'emploi de la rhamnodiastase.

Nous ne voulons pas donner ici l'historique de cette méthode, désormais classique ; on se reportera avec fruit à l'excellente bibliographie que notre ami, A. MEUNIER a établie au cours de son important travail sur *les Lathyrus* [Thèse Doctorat ès-Sciences Naturelles, Nancy 1933].

Nous décrirons en détail dans les pages qui vont suivre, un essai biochimique complet et nous noterons, au fur et à mesure, les réflexions ou les remarques générales effectuées au cours de nos recherches.

1° TRAITEMENT DES PLANTES. — Le plus souvent les plantes sont traitées fraîches, deux ou trois jours au maximum après la cueillette. Cependant, pour certaines espèces nécessitant des excursions assez longues, il n'a pas été possible de traiter la plante à l'état frais. Il nous a fallu effectuer la dessiccation au soleil ; celle-ci produit une légère autolyse des tissus et provoque, par suite, une hydrolyse des constituants glucidiques ; celle-ci atteint rarement 10 p. 100. Ce mode opératoire a été employé le moins souvent possible. La dessiccation est terminée à l'étuve à 30° à l'arrivée au laboratoire et les organes sont aussitôt placés dans des bocaux bien clos où ils se conservent sans altération pendant plusieurs mois.

Les plantes, fraîches ou sèches, sont plongées dans 5 fois leur poids d'alcool à 80°. Le chauffage est maintenu pendant 20 à 30 minutes. La liqueur alcoolique est décantée et le marc est pressé, puis broyé au hachoir universel si les tissus sont épais et durs (écorces, tiges). Les feuilles peuvent se dispenser du hachage. Le marc est alors épuisé par une quantité d'alcool à 80° égale à la première, dans les mêmes conditions. Ces épuisements sont effectués, soit dans des ballons pour les petites quantités (moins de 500 g.), soit dans l'appareil de MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY pour les quantités plus importantes.

Les liqueurs alcooliques sont réunies après expression du marc.

2° CONCENTRATION. — Les liqueurs alcooliques refroidies sont passées à travers une toile métallique fine qui retient les débris d'organes ; le liquide contient en suspension les lipides déposés en flocons pendant le refroidissement. Il est difficile de filtrer ces liquides car les matières grasses colmatent immédiatement le filtre.

Les liqueurs alcooliques sont évaporées à sec dans le vide sous 50° pour les petits essais, dans l'alambic pour les quantités

importantes. Il est inutile d'ajouter du carbonate de calcium, l'acidité des liqueurs étant très faible et les risques d'hydrolyse fort restreints. [COLIN (H.) et BELVAL (H.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, 4, 165].

3° REPRISE PAR L'EAU. — L'extrait obtenu peut être conservé pendant plusieurs années sans changements notables. Cette méthode n'est pas à conseiller et nous préférons reprendre aussitôt l'extrait par un *poids d'eau bouillante égal au poids de la plante*. En effet, certains hétérosides flavoniques (*Salix nigricans et incana*) ne se dissolvent plus dans l'eau bouillante quand l'extrait n'est pas frais ; ceci tient, sans doute, à ce que l'hétéroside cristallise dans l'extrait et, comme il est très peu soluble dans l'eau bouillante, il demeure englué de chlorophylle et ne peut être isolé.

L'eau doit être très chaude ; en effet, l'extrait est formé de substances solubles dans l'eau englobées dans un amas abondant de graisses et de chlorophylle : l'eau chaude détache tous ces produits insolubles des parois du ballon ; elle en provoque la fusion et permet ainsi d'enlever toutes les matières solubles dans l'eau.

4° EPUISEMENT A L'ÉTHÉR. — Le liquide est alors décanté, passé sur un coton hydrophile et épuisé encore tiède par un volume égal d'éther en 2 fois. Si la chlorophylle a été bien éliminée par filtration, il ne se forme que rarement des émulsions.

Le liquide aqueux est versé dans un flacon bien bouché et conservé au frais et à l'abri de la lumière.

Cet épuisement des liquides aqueux par l'éther est justifié par plusieurs raisons.

a) Il permet d'obtenir une solution aqueuse parfaitement limpide.

b) M. C. CHARAUX (*Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, 641) qui nous a conseillé cette méthode, a remarqué que, dans les liquides ainsi traités, il peut se former des cristaux de divers hétérosides peu solubles dans l'eau ; dans des liqueurs non épuisées par l'éther, la cristallisation ne se fait pas, ou bien, elle est masquée par des dépôts amorphes de tannins et de produits divers (chlorophylle, cires). Au contraire, dans des solutions épuisées à l'éther, la cristallisation, si elle doit avoir lieu, est très rapide et permet d'obtenir, d'emblée, un produit non souillé d'impuretés que l'on recueille facilement.

c) Une remarque importante s'impose cependant : les opérations et le traitement des plantes, jusques et y compris l'épuisement par l'éther et sa décantation doivent s'effectuer le plus rapidement possible (moins de 2 heures). En effet, M. HSIEH-YU a déjà signalé [*Thèse Doct. Univ.*, Paris 1932] qu'une durée trop longue du traitement ne permet plus de retirer du *Buddleia* le buddléoflavonoside : ce produit, peu soluble dans l'eau, cristallise avant l'épuisement par l'éther ; il est alors mélangé à la chlorophylle ; on ne peut plus l'extraire, ou bien, il est très impur.

Nous avons observé ces faits dans l'étude des feuilles de *S. Nigricans* et de *S. Incana*. D'ailleurs, malgré toute la rapidité apportée aux opérations, il est difficile d'obtenir l'hétéroside flavonique des feuilles de *S. Nigricans* sans qu'il se produise de cristallisation prématurée.

d) Cependant, l'épuisement par l'éther peut présenter quelques inconvénients.

Ainsi que l'étudie un élève de notre laboratoire, les hétérosides sont, parfois, légèrement solubles dans l'éther ; ce fait a déjà été signalé pour le populoside par Th. WEEVERS [*Jahrb. für Wiss. Botanik*, 1904, 39, 230 ; *Rec. trav. Bot. Néerlandais*, 1910, 7, 1]. La plupart des hétérosides que nous avons rencontrés au cours de notre étude sont fort peu solubles et l'erreur introduite, de ce fait, dans l'analyse, est négligeable.

Nous verrons, au cours de l'étude de *Populus Nigra*, qu'il se forme dans le liquide aqueux, non épuisé par l'éther, des cristaux d'un flavonol que nous n'aurions pas décelé si l'épuisement à l'éther avait été effectué aussitôt. Cet inconvénient doit être signalé si l'on a en vue la recherche de ces produits.

Les cristaux, s'il s'en forme, sont recueillis et analysés à part. L'interprétation de l'essai biochimique est simplifiée quand il existe, dans le même organe, deux hétérosides tributaires du même ferment. De plus, les résultats de l'essai biochimique sont plus nets : nous avons observé, dans l'étude du *S. repens*, des indices de réduction enzymolytique aberrants : ceci tient à la précipitation lente du saliréposide qui diminue la déviation lévogyre des liquides d'essai et fausse les résultats.

5° ESSAI BIOCHIMIQUE. — Il consiste à faire agir sur une solution de plantes, successivement, l'invertine, puis, l'émulsine, la rhamnodiastase ou tout autre ferment et à noter les changements de déviation et de teneur en sucre réducteur.

Technique employée : 75 cm³ du liquide d'extraction obtenu plus haut correspondant à 75 g. de plante fraîche sont portés rapidement à l'ébullition pour chasser l'éther : le liquide est alors amené à 150 cm³ quantité largement suffisante pour les essais. Le départ de l'éther trouble le liquide ; la dilution produit, en général, un léger précipité de tanin. Le liquide refroidi est décanté dans un flacon et additionné de 10 gouttes de toluène.

La solution est toujours fortement colorée : elle renferme des tanins réducteurs : il faut obtenir un liquide limpide et incolore pour effectuer la lecture polarimétrique, dépourvu de tanin pour que le dosage de sucre réducteur corresponde à quelque chose de précis. On arrive facilement à ce résultat en additionnant une prise d'essai de 20 cm³, de 2 cm³ d'extrait de Saturne. On agite et on verse le liquide sur filtre sans pli. La quantité de plomb varie avec la nature des organes mais la dose mentionnée ci-dessus permet d'obtenir un liquide complètement déféqué et ne renfermant pas trop de plomb (qui formerait rapidement un louche de CO³ Pb). La dilution de la liqueur primitive est rendue nécessaire dans presque tous les cas par le volume du précipité plombique : il faut obtenir environ 10 cm³ de filtrat.

Dans quelques cas très rares (*S. Myrsinites*), le précipité plombique est peu abondant et la liqueur ne peut filtrer limpide ; il convient d'ajouter alors 1 cm³ d'une solution de SO⁴Na² au 1/10. Le précipité de SO⁴Pb formé adsorbe le précipité plombique primitif et permet d'obtenir un filtrat limpide.

La solution déféquée est observée au polarimètre avec la flamme du sodium dans un tube de 2 dcm. Le dosage de sucre réducteur est effectué par la méthode de M. G. BERTRAND [*Bull. Soc. Chim.*, 1891, (3), 6, 259] sur 5 cm³ de filtrat, volume qui convient dans presque tous les cas au début de l'essai.

Le liquide est alors additionné de 0 g.,20 d'invertine [*Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6), 25, 16 et 378] et placé à l'étuve à 30° ; il est examiné comme ci-dessus tous les 3 jours ; pratiquement on n'observe plus de différences dans les lectures de déviation ou les dosages de sucre réducteur après 3 jours.

Le liquide est alors rapidement porté à l'ébullition, refroidi, décanté et passé sur un coton. Le filtrat est additionné de 0 g.,20 d'émulsine [*Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, 10, 373], de 10 gouttes de toluène et placé à l'étuve à 30°. Il est examiné au bout de 3 jours et de 8 jours ; s'il y a un changement entre les 2 derniers examens, 0 g.,10 d'émulsine sont ajoutés à l'essai qui n'est examiné que 8 à 15 jours après ; on répète ces additions de fer-

ment jusqu'à l'arrêt de la réaction. Ce mode opératoire nous est imposé par la présence d'une forte quantité de tanin qui précipite l'émulsine et ralentit son action sur les hétérosides : l'invertine est beaucoup moins sensible à cette action.

Comme nous venons de le voir, la présence de tanins nécessite de nombreuses précautions. Est-il possible de les éliminer d'abord et d'effectuer ensuite l'examen biochimique ? Nous avons, au cours de l'étude du *S. Glauca*, effectué quelques essais de défécation préalable à l'extrait de Saturne, à la magnésie anhydre et au carbonate de magnésie. Les résultats obtenus figurent en détail dans l'étude de cette espèce. Les deux derniers modes de défécation (MgO et CO^2Mg) éliminent une portion importante des sucres réducteurs, de saccharose et des hétérosides ; nous devons en abandonner l'emploi dans la recherche biochimique. Au contraire, la défécation par l'extrait de Saturne et l'élimination du plomb en excès par SH^2 n'occasionnent que de faibles pertes en glucides ; l'action des ferments est très rapide et il est possible d'opérer sur des liquides plus concentrés ; les changements de déviation et du taux de sucres réducteurs seront plus importants : l'indice de réduction enzymolytique sera, par suite, plus précis.

Cependant, cette méthode ne doit être employée qu'à bon escient. En effet, au cours de ces précipitations plombiques, il peut se produire une adsorption ou une précipitation de glucides intéressants : les essais biochimiques déféqués doivent normalement suivre l'essai biochimique habituel, décrit plus haut.

Le reste de l'essai biochimique sera utilisé pour la caractérisation du groupement prosthétique des hétérosides hydrolysés. Pour cela, le liquide restant est déféqué à l'extrait de Saturne et filtré ; le filtrat est épuisé à l'éther 2 ou 3 fois. Les solutions éthérées abandonnent des cristaux qui parfois sont très purs. Ainsi les feuilles de *Salix Nigricans* nous ont fourni du saligénol pur et les écorces, du picéol pur ; cet essai peut donner de précieuses indications.

CALCUL DES RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION.

Les résultats obtenus au cours des essais sont multipliés par un coefficient pour les ramener à 100 g. de plante fraîche. Les résultats sont disposés de manière invariable et pour éviter de nombreuses répétitions, on trouvera page 30 la disposition type d'un de ces tableaux, L'indice de réduction enzymolytique est

calculé (nombre de mg. de sucre réducteur formé dans 100 cm³ de liquide pour un changement de déviation de 1° lu au tube de 2 dm.) [*Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), 23, 369]. Celui-ci est caractéristique des glucides hydrolysés par les ferments. Le calcul de cet indice comporte deux déterminations et, si le dosage du sucre réducteur n'est passible que d'erreurs négligeables, il n'en est pas de même de la mesure de la déviation ; un opérateur exercé peut ne faire qu'une erreur de 2' sur chaque lecture. Le calcul montre que l'indice de réduction théorique du saccharose (604) peut-être, de ce fait, entaché d'une erreur de 80 en plus ou en moins pour une différence de lectures de 30'. Une différence de lecture de 1° permet de ramener cette erreur à 40 : au-dessous de 30', l'indice de réduction est difficile à interpréter.

L'indice des glucides hydrolysables par l'émulsine rencontrés dans ce travail est en général plus faible ; l'indice aura une signification plus précise et les différences observées seront de 40 dans les cas les plus défavorables et, en général, de 20 seulement.

Si la plante renferme un mélange de glucides tributaires du même ferment, seuls les essais d'extraction que nous allons examiner permettront de conclure avec sûreté.

Méthodes d'extraction.

L'essai biochimique permet de se familiariser avec le végétal étudié et fournit de précieuses indications.

1° Au cours de la préparation du liquide d'essai, on peut observer la formation de cristaux peu solubles dans l'eau ; on les recueille ; c'est en général, un hétéroside du groupe des flavonosides qui est étudié séparément ; la préparation soignée des liquides d'essai permet une extraction facile de ces produits.

2° L'essai biochimique nous indique la teneur de l'organe en saccharose. Son extraction est tentée si le pourcentage en est suffisant. La méthode la plus simple consiste à déféquer la solution aqueuse par la magnésie ; ainsi que nous le verrons dans l'étude du *Salix Glauca*, la magnésie fixe les tanins, une grande quantité de sucre réducteur, et de saccharose, et très peu d'hétérosides. Malgré l'élimination partielle du saccharose, nous avons maintes fois constaté qu'il est très facile d'extraire ce diholoside après l'action de la magnésie ; il est probable qu'au cours de cette défécation, il s'élimine un corps gênant la cristallisation (probablement une amine). Nous verrons (v. p. 47) la technique précise d'extraction du saccharose,

3° Nous avons, au cours de ces recherches, attaché une attention spéciale à l'étude et à la caractérisation des hétérosides existant dans les organes des *Salicacées*. L'essai biochimique nous indique, par l'indice de réduction enzymolytique, la nature *probable* du glucide hydrolysable par l'émulsine ; en admettant que ce glucide fournisse par hydrolyse 50 p. 100 de sucre réducteur, on peut calculer *approximativement* la teneur de l'organe en hétéroside et choisir la méthode qui permettra son extraction.

Nous avons eu, presque toujours, à tenter l'extraction du picéoside ou du salicoside ; aussi ne décrirons-nous ici, en détail, que l'extraction de ces 2 hétérosides.

Elle est très facile. Ils présentent d'ailleurs des propriétés très voisines qui seront étudiées comparativement plus loin.

Au début de nos recherches nous avons employé le procédé classique de défécation au plomb, mais nous l'avons bientôt abandonné pour les procédés de défécation à la chaux ou à la magnésie.

Nous décrirons ci-après en détail, ces procédés pour ne plus avoir à y revenir.

Défécation au plomb. — La solution aqueuse correspondant à son poids de plante est diluée avec 2 à 3 volumes d'eau selon la quantité de tanin ; le liquide est alors additionné d'extrait de Saturne. La quantité en est variable suivant les organes et comprise entre 10 et 20 cm³ pour 100 g. d'organes frais. Le mélange est agité vigoureusement, essoré sur filtre de Büchner. Le précipité est lavé à l'eau distillée. Le filtrat est saturé d'hydrogène sulfuré ; on essore sur filtre de Büchner et on lave le précipité de SPb. Le liquide limpide est évaporé à sec dans le vide, sous 50°.

Si la plante renferme du picéoside en quantité suffisante l'extrait obtenu se prend en une masse cristalline qu'il suffit de reprendre par l'eau distillée à chaud. Par refroidissement, le picéoside cristallise.

Si la plante renferme du salicoside, il ne se forme, en général, pas de cristaux. L'extrait est repris par l'alcool à 95° et le salicoside cristallise.

Si ces 2 hétérosides n'existent qu'en petites quantités, l'extrait obtenu est épuisé 5 fois par l'ester acétique hydraté à l'ébullition ; les liqueurs estéroacétiques concentrées au 1/5 abandonnées, après repos, les hétérosides en cristaux déjà très purs,

Défécation magnésienne. — Nous l'avons employée au cours de nos travaux sur l'*Amelanchier* [*Thèse Doct. Univ. (Pharmacie)*, Paris 1931].

100 cm³ de liquide correspondant à 100 g. d'organe frais sont placés dans une cuvette à photographie ; la hauteur du liquide ne doit pas dépasser 0 cm.,5. On délaie, avec une spatule flexible, 10 g. de magnésie anhydre légère. La pâte obtenue est portée à l'étuve à 40°. Elle est sèche au bout de 24 h. On pulvérise et épuise par 200 cm³ d'alcool à 90° à l'ébullition pendant 20 minutes. On essore sur filtre de Büchner et on lave le précipité avec 200 cm³ d'alcool bouillant. Les liqueurs alcooliques sont évaporées à sec dans le vide, sous 50°. Dans ces conditions, 85 p. 100 de l'hétéroside restent dans l'extrait, alors qu'il n'y a plus que 26 p. 100 de saccharose et 14 p. 100 de sucre réducteur. Dans le cas du picéoside, l'extrait est toujours cristallisé ; on reprend par l'eau chaude et le picéoside cristallise. Les eaux-mères évaporées à sec et reprises par l'alcool absolu abandonnent le saccharose cristallisé.

Dans le cas du salicoside, l'extrait déféqué par la magnésie est dissous dans l'alcool à 95° à chaud ; après refroidissement, le liquide cristallise sur amorce de salicoside. On recueille les cristaux formés et il n'est pas rare que le saccharose cristallise lentement après le salicoside.

Cette méthode d'extraction est très rapide ; malgré la perte légère due à la défécation, les rendements en hétéroside *sont meilleurs* que dans le procédé au plomb ; ceci est dû à l'élimination importante du saccharose et surtout des sucres réducteurs, fixés à l'état de combinaison magnésienne insoluble dans l'alcool fort.

Nous avons employé fréquemment cette méthode, surtout dans nos dernières recherches ; elle nous a permis d'extraire sûrement un hétéroside *en partant de moins de 100 g. de matériel frais*.

Ainsi que nous le faisons remarquer dans notre travail sur l'*Amelanchier*, ce procédé n'est pas aussi général que la méthode à l'extrait de Saturne ; en effet, la magnésie est alcaline et risque de provoquer, soit des isomérisations (amygdaline en iso-amygdaline par exemple), soit des saponifications (transformation du salicylate de méthyle en acide salicylique dans les hétérosides). Cependant, il est remarquable que certains hétérosides n'aient pu être obtenus que par cette méthode. La préparation de l'aucuboside à partir du *Lathraea Clandestina* [*Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, 11, 620] a causé de nombreux échecs à

M. BRIDEL qui ne l'a retiré, en grandes quantités, que par défécation magnésienne. Ceci est dû à l'élimination des acides organiques, des sucres et de produits retardant la cristallisation (probablement du groupe des amines).

Défécation à la chaux. — C'est une méthode classique déjà employée par les auteurs qui ont découvert ou étudié le salicoside.

Au liquide correspondant à 100 g. d'organe, on ajoute 40 cm³ d'un lait de chaux au 1/5. Le mélange est agité, puis versé après 5 minutes de contact dans 4 volumes d'alcool à 95°. On essore, et la liqueur alcoolique est distillée à sec. L'extrait est traité comme dans le cas de la magnésie.

Ce procédé, en apparence plus simple conduit à des rendements moins bons. Il permet, dans certains cas, une meilleure élimination des oses ou du saccharose. Nous l'avons peu employé.

Quelles objections peut-on présenter à ces méthodes ?

Il est bien certain que ces procédés sont brutaux et qu'ils peuvent donner naissance à des produits de dégradation ; la magnésie saponifie la fonction ester du monotropitoside et conduirait au primevéroside de l'acide salicylique (ou à son sel de Mg). Cette objection est très importante. Y a-t-il moyen de se mettre en garde ? Nous avons déjà insisté sur la nécessité de faire précéder tout essai d'extraction d'un essai biochimique ; celui-ci fournit un indice de réduction enzymolytique ; il est dès lors facile de se rendre compte si le produit extrait existe réellement dans la plante ; il suffit de comparer l'indice de réduction enzymolytique du produit extrait avec celui de l'essai biochimique.

Une autre méthode consiste à extraire l'hétéroside sans défécation ; elle est longue et ne conduit que difficilement à l'obtention d'une faible quantité de produit pur. Enfin, on peut tenter l'extraction des glucides par deux modes de défécation différents ; à l'extrait de Saturne et à la magnésie par exemple ; si les produits obtenus sont identiques, il est fort probable qu'ils existent en cet état dans la solution extractive.

Malgré toutes ces raisons, il faut être très prudent dans l'interprétation et accumuler le plus de preuves expérimentales pour arriver à une certitude.

Extraction par l'éther. -- Le procédé qui consiste à épuiser une plante sèche par l'éther dans un appareil de Soxhlet nous

a été recommandé par M. C. CHARAUX ; il sera décrit en détail dans l'étude de *Salix Purpurea*. Certains hétérosides sont assez solubles dans ce solvant et cristallisent dans l'éther ; un élève de notre laboratoire étudie en ce moment cette curieuse propriété et ses applications pour l'extraction facile des hétérosides.

Recherche microchimique des hétérosides. — Nous avons examiné quelques coupes de feuilles et de tiges selon les indications de M. A. GORIS [*Thèse agrégation*, Paris 1914]. Nous n'avons pas effectué un examen systématique car il est difficile, parfois, d'apprécier la présence ou l'absence du salicoside par ces réactions. Il n'existe pas de procédé de localisation du picéoside.

MÉTHODES DE CARACTÉRISATION.

POINTS DE FUSION. — Nous avons toujours employé le bloc Maquenne pour cette détermination ; nous avons suivi exactement la technique préconisée par MM. G. BERTRAND et P. THOMAS [*Guide pour les manipulations de Chimie biologique*, Dunod, Paris]. Nous avons employé deux thermomètres en verre recuit de précision gradués de -20° à $+180^{\circ}$ et de $+150^{\circ}$ à $+360^{\circ}$ mesurant environ 25 cm. de longueur. La colonne de mercure peut être ainsi entièrement plongée dans le bloc. Cette colonne est à la température du bloc et aucune correction n'est à faire. On a soin de projeter la substance finement pulvérisée sur le bloc au niveau du réservoir thermométrique.

POUVOIRS ROTATOIRES. — Ils sont déterminés à la flamme du sodium avec un polarimètre Laurent ; la concentration de la solution examinée ne dépasse pas 2 p. 100. La longueur du tube polarimétrique peut varier de 1/2 dm. à 5 dm. Les solvants employés sont l'eau distillée, l'alcool ou la pyridine. Pour ce dernier solvant, employé pour les hétérosides flavoniques, il est nécessaire de vérifier l'absence de pouvoir rotatoire.

Nous avons rarement utilisé le polarimètre à monochromateur de JOBIN et YVON, la précision des mesures étant très suffisante, dans la plupart des cas, avec le polarimètre à flamme de sodium.

OSAZONES. — Les osazones sont préparées de la manière suivante :

A 20 cm³ de solution contenant de 0,01 à 0,10 d'un ose, on

ajoute 1 cm³ de phénylhydrazine pure (1) et 1 cm³ d'acide acétique pur : le mélange est porté dans un tube d'essai au bain-marie bouillant pendant 45 minutes. On laisse refroidir lentement dans le bain-marie, en ayant soin de fermer le tube. A de faibles concentrations, la glucosazone ne se forme pas à chaud comme à l'ordinaire, mais elle se dépose cristallisée de façon typique par refroidissement lent.

Propriétés comparées de quelques hétérosides.

Dans ce chapitre, nous étudierons d'abord brièvement le salicoside et le picéoside, puis nous terminerons par quelques considérations sur les hétérosides flavoniques.

SALICOSIDE.

Ce fut le premier hétéroside découvert chez les végétaux ; LEROUX (*l. c.* p. 11) l'extrait en 1830 de l'écorce de *Salix purpurea* var. *Helix* de la façon suivante :

3 livres d'écorce sèche pulvérisée sont bouillies pendant 4 heures avec 15 livres d'eau renfermant 4 onces (284 g.) de carbonate de potasse ; la liqueur est passée, puis, déféquée au sous-acétate de plomb. Après filtration, on élimine l'excès de plomb par l'acide sulfurique, d'abord, puis par l'hydrogène sulfuré. La liqueur limpide obtenue après filtration, est neutralisée par le carbonate de calcium, et filtrée à nouveau. Par concentration, elle abandonne des cristaux de salicoside.

Dans les années qui suivirent cette découverte, de nombreux auteurs se sont préoccupés de la recherche et de l'extraction du salicoside dans les divers saules ou peupliers. La méthode de défécation indispensable pour obtenir cet hétéroside procède de la défécation à l'extrait de Saturne, à la chaux éteinte ou au blanc d'œuf.

Nous avons employé les 2 premières méthodes sans grands changements dans les études d'extraction mentionnées plus haut : nous n'insisterons pas ici sur les modes d'extraction de ces produits dont nous verrons en détail de nombreux exemples.

(1) La phénylhydrazine récemment distillée est enfermée aussitôt dans des ampoules de 1 cm³ que l'on scelle en atmosphère d'azote ; par refroidissement la phénylhydrazine cristallise et peut se conserver, à l'obscurité et en lieu frais, pendant plusieurs années, sans coloration sensible,

Le salicoside a-t-il été retrouvé dans une autre famille que celle des *Salicacées* ? D'après BÜCHNER [*Pharm. Zentrabl.*, 1830, 496], le salicoside existerait dans le *Spiraea Ulmaria* et se transformerait en aldéhyde salicylique. D'après LORENZO et MORENO [*Journ. de Pharm.*, 1834, 127], il y aurait une substance semblable au salicoside dans les racines de *Genista monosperna*.

De nombreux auteurs se sont occupés de *Spiraea Ulmaria* et n'ont pas retrouvé le salicoside. Quant à *Genista monosperna*, les termes employés par les auteurs nous font penser qu'ils n'ont pas obtenu de produit pur.

WÖHLER signale également la présence du salicoside dans le *Castoreum* du Canada (?).

Le salicoside ne semble pas avoir été rencontré de façon certaine ailleurs que chez les *Salicacées* ; mais nous sommes persuadés qu'il sera rencontré, un jour ou l'autre, dans le règne végétal.

PROPRIÉTÉS DU SALICOSIDE. — Le salicoside cristallise dans le système rhombique en aiguilles blanches, brillantes, de saveur très amère, fondant à $\pm 201^\circ$, dont le pouvoir rotatoire en solution à 5 p. 100 dans l'eau est de : $\alpha_D = -62^\circ 80$. D'après DOTT [*Pharm. Journ. and Trans.*, (3) 17, 622], le salicoside se dissout dans 34,7 parties d'eau à 0° , 29,4 à 11° , 21 à 29° , 9 parties à 56° , 3,82 à 75° , 1,17 à 95° et 0,68 à 100° . Soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther. Le meilleur solvant pour effectuer les cristallisations est l'alcool à 95° .

Nous avons déterminé les solubilités du salicoside et du picéoside dans différents solvants, par agitation à 18° . Les chiffres obtenus figurent dans le tableau suivant — 100 g. de solvant dissolvent à 18° .

	Salicoside	Picéoside
Eau distillée	4,05	2,93
Alcool à 95°	0,47	1,21
Acétone anhydre	0,014	0,34
Ester acétique hydraté	0,084	0,14
Ester acétique anhydre	0,018	0,064

La solubilité du salicoside dans l'eau est identique à celle déterminée par DOTT.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — L'acide sulfurique froid colore le salicoside en rouge intense [PIRIA, *l. c.* p. 11]. Cette réaction est très intéressante; elle n'est pas spécifique, car certains hétérosi-

des cyanhydriques fournissent une coloration analogue et le coniféroside, une coloration violette.

Cette réaction sert de base aux recherches microchimiques du salicoside dans les plantes. On peut employer l'acide sulfurique hydraté ($\text{SO}^3\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$) additionné de séléniate de sodium, ainsi que le conseille M. A. GORIS [*l. c.* p. 26].

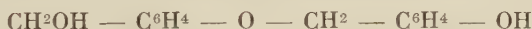
Les alcalis à froid n'altèrent pas le salicoside, la décomposition n'a lieu qu'à l'ébullition et les produits de dégradation présentent peu d'intérêt. L'émulsine dédouble rapidement le salicoside en fournissant 62,8 p. 100 de glucose et 43,3 p. 100 de saligénol (alcool orthoxybenzoïque) $\text{C}^6\text{H}^4 \begin{cases} \text{CH}^2\text{OH} & (1). \\ \text{OH} & (2). \end{cases}$

L'équation d'hydrolyse est la suivante :



L'indice de réduction enzymolytique est de 321.

Le saligénol est très soluble dans l'éther qui l'enlève facilement à ses solutions aqueuses ; il fond nettement à $+ 84^\circ$ et se colore en violet intense par Cl^3Fe dilué. L'hydrolyse par les acides dilués ou l'eau à 150° conduit à l'obtention de la même quantité de glucose, mais le saligénol formé est polymérisé en une résine, le salirétol (salirétine). La formule de ce produit est assez mal établie ; on admet la formule développée suivante :



Il y aurait, par élimination d'une molécule d'eau, formation d'un éther entre une fonction alcool primaire et une fonction phénol de deux molécules de saligénol. Rien ne nous permet de croire que deux molécules de saligénol seulement entrent dans la réaction ; il est probable que la salirétine est un polymère élevé du saligénol. D'ailleurs, GERHARDT lui assigne la formule $(\text{C}^7\text{H}^8\text{O}^2)^4 - 3 \text{H}^2\text{O}$ et BEILSTEIN et SEELHEIM $(\text{C}^7\text{H}^8\text{O}^2)^8 - 7 \text{H}^2\text{O}$.

Une réaction intéressante consiste dans l'action de l'acide nitrique ($d = 1,16$) sur le salicoside (FORMANEK : *Chem. Ztg.*, 19 — *Repertor.*, 1895, 259) : il y a oxydation de la fonction alcoolique et formation du glucoside de l'aldéhyde salicylique, nommé hélicoside.

Le *populoside* est l'ester benzoïque d'une fonction alcoolique du glucose du salicoside.

PICEOSIDE.

Le picéoside a été découvert par Ch. TANRET dans les jeunes rameaux d'*Epicea* (*Picea excelsa* Link). Le mode opératoire em-

ployé par Ch. TANRET est très original : il consiste à précipiter le picéoside par l'acétate de plomb ammoniacal. Le précipité du dérivé plombique obtenu est décomposé et après des opérations assez longues, on obtient des cristaux de picéoside. Les rendements varient entre 0,05 et 0,3 p. 100 de rameaux.

Nous avons soumis les rameaux de *Picea excelsa* récoltés au mois d'avril à la méthode biochimique et à des essais d'extraction.

	100 cm ³ = 100 g.	Symboles adoptés
Déviatiou initiale (l = 2)	— 2°28'	α_i
» après l'action de l'invertine	— 4°20'	α_i
» après l'action de l'émulsine	— 2°10'	α_e
Sucre réducteur initial (exprimé en glucose p. 100 cm ³)	1,252	S. R. i
Sucre réducteur après l'action de l'invertine	2,212	S. R. i
Sucre réducteur après l'action de l'émulsine	2,80	S. R. e
<i>Par l'invertine :</i>		
Recul de la déviation	2°8'	$\Delta \alpha_i$
Sucre réducteur formé	0,960	Δ S. R. i
Indice de réduction enzymolytique ..	452	I i
<i>Par l'émulsine :</i>		
Retour de la déviation	2°10'	$\Delta \alpha_e$
Sucre réducteur formé	0,588	Δ S. R. e
Indice de réduction enzymolytique ..	272	I e

L'invertine nous permet d'observer un indice de réduction enzymolytique de 452 : nous ne pouvons rien dire sur la nature du glucide hydrolysable.

L'émulsine fournit un indice de 272. Le picéoside possède un indice de 230.

La teneur de ces rameaux est assez élevée et beaucoup plus forte que ne le pensait Ch. TANRET. La quantité de picéoside calculée d'après cet essai serait voisine de 1 g. pour 100 g. de rameaux frais.

ESSAI D'EXTRACTION. — Si le principe de la méthode employée par Ch. TANRET est fort intéressant, les opérations sont longues et les rendements sont peu importants. Aussi avons-nous simplement déféqué la solution aqueuse de plantes par le sous-acétate de plomb. L'extrait obtenu épuisé 5 fois par l'ester acétique à l'ébullition, nous a permis d'obtenir après concentration des solutions au 1/5, 3 g. de cristaux formés par du picéoside presque pur.

La teneur des rameaux d'épicea en picéoside est voisine de 1 g. p. 100.

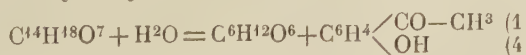
Il y a quelques années M. BRIDEL, C. CHARAUX et J. RABATÉ [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, 10, 1111] ont retiré des rameaux de l'*Amelanchier* un hétéroside que j'ai identifié par la suite au picéoside. Nous verrons, au cours de l'étude des Salicacées que cet hétéroside est très fréquent dans cette famille ; aussi allons-nous en donner les principales propriétés :

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Il forme des prismes allongés, incolores, de saveur très amère ; il est hydraté et perd 4,64 p. 100 d'eau à + 105°. Il fond très nettement à + 195°,5 (Ch. TANRET + 194°). Il est lévogyre $\alpha_D = -82^\circ,63$ en solution aqueuse pour le produit hydraté, ce qui donne $\alpha_D = -86^\circ,56$ pour le produit anhydre. Ch. TANRET indique -84° dans l'eau et -78° dans l'alcool à 70°. Nous avons trouvé $-81^\circ,77$ dans l'alcool à 80°. Les solubilités sont mentionnées plus haut (v. p. 28). A l'ébullition, le picéoside est très soluble dans l'eau chaude (Ch. TANRET indique une partie de picéoside pour une partie d'eau bouillante). 100 g. d'alcool absolu dissolvent à l'ébullition 5 g. de picéoside. Les meilleurs solvants pour effectuer les cristallisations sont l'eau et l'alcool absolu.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Le picéoside ne présente aucune réaction spéciale avec les réactifs courants ; il est légèrement réducteur : 1 g. réduit comme 0 g.,070 de glucose. Il ne donne aucune réaction nette avec SO^+H^2 , ce qui le différencie nettement du salicoside.

Ainsi que l'a déjà montré Ch. TANRET, il est facilement hydrolysable par l'émulsine ou les acides dilués à l'ébullition en fournissant 60,3 de glucose et 45,7 de picéol, qui n'est autre, ainsi que l'ont montré C. CHARON et ZAMANOS [*C. R. Ac. Sc.*, 1901, 133, 741] que la p. oxyacétophénone.

L'équation d'hydrolyse est la suivante :



L'indice de réduction enzymolytique est de 230.

Le picéol cristallise facilement dans l'eau : il est très soluble dans l'éther. Son point de fusion instantané est très net, + 109° (Ch. TANRET + 109°). Il ne fournit avec Cl^3Fe dilué qu'une coloration lilas, très faible.

Nous en avons préparé plusieurs dérivés :

la p. méthoxyacétophénone (P. F. = 37°), d'odeur forte et agréable.

la phénylhydrazone du picéol (P. F. = $+ 151^{\circ}$).

l'oxime du picéol (P. F. = $+ 142^{\circ},5$).

la semicarbazone du picéol (P. F. = $+ 207^{\circ}$).

Enfin, nous avons pu préparer, à partir du picéoside, quelques dérivés de la fonction cétonique : la phénylhydrazone du picéoside (P. F. = $+ 185^{\circ}$), cristaux très peu solubles dans l'eau dont la formation quantitative nous servira à éliminer le picéoside.

L'oxime du picéoside (P. F. = $+ 228^{\circ}$) beaucoup plus soluble dans l'eau froide.

La semicarbazone du picéoside (P. F. = $+ 220^{\circ}$), qui est aussi légèrement soluble dans l'eau froide.

Tous ces dérivés sont hydrolysés par les acides dilués à chaud et par l'émulsine. Enfin, notons une propriété intéressante signalée par Ch. TANRET. Le picéoside chauffé avec de l'eau de baryte fournit de la lévoglucosane (P. F. = $+ 178^{\circ}$; $[\alpha]_D = - 66^{\circ},6$) avec un rendement presque théorique, alors que le salicoside ou le coniféroside n'en donnent pas ou très peu.

SÉPARATION D'UN MÉLANGE DE SALICOSIDE ET DE PICÉOSIDE.

Comme nous le verrons au cours de cette étude, les deux hétérosides existent parfois en même temps dans le même organe. Est-il possible de prouver l'existence du salicoside en présence du picéoside et inversement ?

1° L'essai biochimique nous fournit un indice de réduction enzymolytique : l'indice théorique de salicoside est de 326, celui du picéoside de 230 ; selon que l'indice trouvé se rapproche de l'un ou de l'autre des indices théoriques, on peut estimer *très grossièrement* la teneur respective en chacun des produits.

2° L'hydrolyse par l'émulsine d'une solution aqueuse de plante permet d'obtenir un extrait éthéré renfermant le picéol et le saligénol : ce dernier fournit une coloration violette intense avec Cl^+Fe dilué. Au contraire, le picéol ne donne, dans les mêmes conditions, qu'une coloration lilas très faible. En comparant au colorimètre les teintes obtenues, on peut apprécier la teneur approchée de l'extrait éthéré en saligénol : nous avons employé cette méthode pour le *Salix nigricans* et *retusa*.

3° Après les opérations de défécation habituelles, si l'extrait obtenu est cristallisé, il suffit d'en porter quelques cristaux dans SO^4H^2 pur pour observer une coloration rouge intense, si le salicoside est présent ; ceci ne prouve nullement l'absence du picéoside, (qui ne donne pas de réaction) : on peut seulement déceler le salicoside.

4° La méthode la plus sûre consiste dans l'extraction séparée des 2 hétérosides. Nous avons vu plus haut les solubilités comparées du salicoside et du picéoside ; il y a des différences très nettes (v. p. 28) mais si l'on essaie une séparation (dans l'acétone par exemple où les différences sont assez grandes) on constate qu'il entre en jeu des phénomènes de dissolution réciproque. Ce serait pis encore si, en plus des deux hétérosides, nous avions en solution des oses, des holosides et de nombreux autres produits, comme dans les végétaux étudiés.

5° La seule façon pratique d'isoler le salicoside en présence du picéoside consiste à éliminer entièrement le picéoside. Nous avons employé ce procédé dans le cas de *S. Nigricans* et de *S. retusa* : nous en donnerons ici le principe.

Les rameaux traités sont riches en picéoside ; après une défécation magnésienne, l'extrait obtenu est cristallisé et fournit une réaction rouge avec SO^4H^2 concentré ; le salicoside existe probablement dans ces organes. L'extrait est repris par une petite quantité d'eau chaude. Il se forme, par refroidissement, des cristaux qui ne se colorent plus par SO^4H^2 : ainsi que le montre l'analyse, c'est du picéoside pur.

Les eaux-mères privées d'une partie importante du picéoside sont additionnées de levure fraîche qui détruit les oses et le saccharose. La solution, débarrassée de la levure par défécation plombique, est traitée par l'acétate de phénylhydrazine en excès à l'ébullition. Le liquide porté à la glacière abandonne des cristaux abondants de phénylhydrazone du picéoside que l'on élimine par filtration. L'excès de phénylhydrazine est enlevé par l'aldéhyde benzoïque ; après essorage du précipité de phénylhydrazone benzoïque, la liqueur est agitée à l'éther pour éliminer l'excès d'aldéhyde ; les eaux-mères ne renferment plus alors que du salicoside qu'il est très facile d'en extraire.

Cette méthode, un peu longue, est très sûre et très spécifique.

DES HETEROSIDES FLAVONIQUES.

Au cours d'études diverses [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, 12, 974 et 1933, 15, 130], il nous a été donné d'extraire des hétérosides du groupe des flavonolosides ; ainsi que nous avons pu nous en rendre compte, il est très difficile d'identifier ces produits. Heureusement, M. C. CHARAUX a récemment donné [*l. c.* p. 18] les constantes du rutoside, du robinoside et de quelques autres hétérosides flavoniques, ainsi qu'un essai chronométrique très précieux.

M. BRIDEL et C. BÉGUIN [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, 8, 901] étudiant les feuilles de *S. Triandra* en ont retiré du rutoside. Nous n'avons pas rencontré cet hétéroside dans d'autres espèces, mais nous avons pu extraire, à l'état pur, des flavonolosides des feuilles de *S. Arbuscula*, *Daphnoides*, *Nigricans*, *Purpurea* et déceler leur présence dans les feuilles et les rameaux de *S. Incana* et *phylicifolia*.

Nous désirions comparer les propriétés de ces corps avec celles des nombreux hétérosides extraits des plantes. Nous avons constaté que, pour beaucoup de ces produits, les points de fusion ne correspondent à rien de bien précis (les hétérosides fondent mal) et que les sucres réducteurs obtenus par hydrolyse sont parfois plus ou moins bien caractérisés.

Le quercétol fond à + 299°	Nous avons trouvé + 324°
Le bromoquercétol à + 238°	— — — + 265°
Le robinoside à + 197°	— — — + 207°
Le rutoside à 188-190°	— — — + 196°

Les pouvoirs rotatoires de ces produits n'ont, en général, jamais été mesurés. Ils sont d'ailleurs difficiles à déterminer étant donné la faible solubilité des produits et leur coloration. Aussi conçoit-on facilement que l'identification des corps obtenus soit presque impossible. Le nombre des hétérosides flavoniques peut probablement être réduit ; le rutoside a été décrit sous sept noms différents (Méline, Phytoméline, Osyritrine, Violaquercitrine, Myrticolorine, Eldrine, Sophorine) et peut-être existe-t-il encore des produits qui lui sont identiques.

Force nous a été d'effectuer des analyses complètes avec les produits découverts ; ceci nécessite beaucoup de matière et n'a pas toujours été possible ; les tables d'hétérosides flavoniques que nous avons dressées, attentivement consultées, n'ont permis dans aucun cas d'identification sûre.

PREMIÈRE PARTIE.

Etude chimique des Salicacées,

Salix Daphnoïdes Vill.

WIDEMAN [l. c. p. 11], HERBERGER [l. c. p. 11] et BOETTGER [*Jahr. Physik. Ver. Frankfurt*, 1871-1872] isolent le salicoside des feuilles et des écorces, alors que BRACONNOT [l. c. p. 11] et JOHANNSON [l. c. p. 11] ne l'ont pas mis en évidence. JACOBY [Thèse DORPAT 1890] caractérise dans la variété *acutifolia* une matière colorante jaune et un glucoside. Enfin BROWN [*Pharm. Journ.*, 1903, 16, 558] estime la teneur des écorces en salicoside à 3-4 p. 100.

Nous avons rencontré à 100 m. du col du Lautaret, dans un endroit humide et abrité du vent, un échantillon typique de *S. Daphnoïdes* (juillet 1933). C'est d'ailleurs le seul arbuste qui ait pu résister, à cet endroit, à la violence des vents et à la pression exercée par la neige.

Cette espèce est caractérisée essentiellement par la pruine blanche qui recouvre ses jeunes rameaux et par la teinte jaune de son parenchyme cortical (surtout sur les vieux troncs), ainsi que l'a remarqué JACOBY. Nous avons, pour l'instant, délaissé l'étude de l'enduit cireux qui donne un aspect si typique à cette espèce et nous nous sommes plus spécialement attachés à l'étude des glucides. Nous croyions obtenir facilement la substance qui colore en jaune cette écorce. Nous verrons comment, dans le *S. pupurea*, la partie interne des écorces âgées s'enrichit en un hétéroside jaune, l'isosalipurposide. La préparation de ce produit est très simple. Nous avons tenté l'extraction du produit jaune de l'écorce de *S. Daphnoïdes* de cette manière : nous n'avons rien obtenu.

Ce produit est, à notre avis, de nature différente.

De plus, alors que dans le *S. Purpurea*, c'est la portion libérienne qui est seule colorée en jaune d'or, dans le *S. Daphnoïdes*, le liber et le parenchyme cortical sont également teintés en jaune. Nous avons obtenu des produits riches en ce colorant mais ils sont encore trop impurs et leur étude ne figure pas dans ce travail.

Etude des feuilles.

Il se forme très rapidement après agitation du liquide aqueux d'extraction par l'éther un précipité cristallisé, jaune ; la liqueur aqueuse est alors filtrée. Le produit obtenu est un hétéroside flavonique. L'essai biochimique des feuilles est effectué sur le liquide ainsi débarrassé de l'hétéroside flavonique.

	Feuilles	Rameaux
α_1	+ 20'	— 3°37'
α_i	— 40'	— 4°1'
α_e	+ 11'	+ 44'
SR.1.....	0,569	0,503
SR.i.....	1,183	0,731
SR.e.....	1,580	1,99
$\Delta \alpha_i$	1°	24'
Δ SR. i.....	0,614	0,228
I i.	614	572
$\Delta \alpha_e$	51'	4°45'
Δ SR. e.....	0,397	1,26
I e.....	467	266

Le corps hydrolysable par l'invertine est du saccharose (indice 614). Les feuilles fraîches en renferment 0,60 environ.

L'émulsine provoque la formation de 0,397 de sucre réducteur. L'indice 467 est nettement plus élevé que celui du salicoside. Cependant, le reste de l'essai biochimique déféqué à l'extrait de Saturne puis, agité à l'éther, permet d'obtenir, après évaporation du solvant, des cristaux incolores fondant au-dessous de + 50°, mais fournissant une coloration violette intense avec Cl^3Fe dilué.

ESSAI D'EXTRACTION. — Il est tenté sur 180 g. de feuilles fraîches qui sont épuisées puis déféquées par 15 g. de magnésie anhydre ; il se forme un précipité magnésien *jaune d'or* que nous n'avons pas étudié. Après reprise du résidu déféqué par l'alcool à 99°, on obtient 0,12 de saccharose ($\alpha_D = + 63^\circ,03$).

Les eaux-mères sont évaporées à sec, reprises par l'eau et soumises à la fermentation par la levure haute pour éliminer les oses et le saccharose. La liqueur fermentée est versée dans l'alcool chaud. On filtre et on évapore à sec. L'extrait repris par l'alcool à 95° permet d'obtenir du salicoside pur (0 g.,09).

Etude de l'hétéroside flavonolique.

Appelons ce produit *Daphneflavonolosite*. Le produit brut obtenu plus haut est dissous dans l'alcool absolu bouillant ; on ajoute du noir animal et on filtre. Le liquide alcoolique additionné de son volume d'eau fournit de petites aiguilles jaunes, fondant au bloc MAQUENNE à $+ 285^{\circ}$. Une autre purification n'élève pas le point de fusion. Le produit est donc pur. Le rendement en produit pur est de 0,50 p. 100 de feuilles fraîches.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Aiguilles jaunes pâle, sans odeur ni saveur marquée. Fond lentement à $+ 270^{\circ}$ et charbonne. Fond rapidement à $+ 280^{\circ}$ et instantanément à $+ 285^{\circ}$. Le produit fondu charbonne aussitôt.

Son pouvoir rotatoire en solution dans l'alcool à 85° est voisin de : $[\alpha]_D = -79^{\circ}$ ($\alpha = -29^{\circ}$; $v = 10$; $l = 2$; $p = 0,0305$).

Teneur en eau, à l'étuve à 118° - 120° : 0 g.,238 d'hétéroside stable à l'air ont perdu en 3 heures 0 g.,0133 d'eau soit une perte de 5.58 p. 100 ; en un jour, à l'air libre, la reprise d'eau d'hydratation est intégrale (5.43 p. 100). Le daphnéflavonolosite est hydrolysable par les acides dilués.

HYDROLYSE ACIDE. — 1° *Essai chronométrique* de C. CHARAUX [l. c. p. 18] 0 g.,05 sont chauffés dans les conditions fixées avec 10 cm³ d'eau et 10 gouttes de ClH pur ; le glucoside se dissout lentement et entièrement au bout de 20' d'ébullition. L'apparition des cristaux ne se produit qu'au bout de 40'. Sur des temps aussi longs, les conditions de chauffe influent beaucoup ; aussi les temps mentionnés peuvent varier de 5 minutes en plus ou en moins.

C. CHARAUX [l. c. p. 18] a déjà observé ce fait intéressant pour le lupinoside et il pense qu'il se forme, à une certaine période de l'hydrolyse, une combinaison instable de l'acide et du glucoside, beaucoup plus soluble que le glucoside lui-même dans l'eau bouillante.

HYDROLYSE SULFURIQUE. — 0. 0934 d'hétéroside hydraté sont chauffés pendant 3 heures avec 20 cm³ de SO³H² à 6 p. 100. Le produit se dissout lentement puis apparaissent les cristaux jaunes du flavonol. On recueille ce dernier sur un creuset de Gooch, on le lave à l'eau distillée et on le sèche dans le vide, jusqu'à poids constant : le pro-

duit pèse 0,0651. Les eaux de lavage sont amenées à 50 cm³ et examinées au polarimètre. Le sucre réducteur est dosé dans le liquide.

Il se forme par hydrolyse, p. 100 g. de glucoside anhydre, 67,3 de flavonol et 39,3 de sucre réducteur de pouvoir rotatoire voisin de + 49°3 ; une autre hydrolyse nous a permis de calculer un pouvoir rotatoire de l'ose présent dans le liquide de + 50°,7 et une teneur en glucose de 38,9 p. 100 g. de glucoside anhydre.

CARACTÉRISATION DU GLUCOSE. — Les 20 cm³ de liquide aqueux d'hydrolyse sont additionnés de CO²Ca pour neutraliser l'acide. Le liquide est filtré, évaporé à sec et repris par 10 cm³ d'eau ; on ajoute alors 0 g.,20 d'acétate de sodium, 4 gouttes d'acide acétique et 8 gouttes de phénylhydrazine pure. Après un chauffage de 30' en tube scellé, il se forme par refroidissement des cristaux jaunes, ayant l'aspect typique de la glucosazone et fondant à + 229°.

C'est donc bien du *glucose* qui se forme au cours de l'hydrolyse.

ETUDE DU DAPHNÉFLAVONOL. — L'aglycone précipité pendant l'hydrolyse forme des cristaux jaunes qui sont purs ; ils fondent lentement à + 323° et instantanément à + 325° ; le produit se prend en une masse qui n'est pas encore fusible à + 370°.

Desséché dans le vide à 80°, il perd 4.77 p. 100 d'eau. Il est facile d'ailleurs de purifier ce produit, s'il en est besoin. On le dissout à chaud dans l'acide acétique pur : le liquide chaud est additionné d'eau jusqu'à début de trouble. Le mélange est réchauffé et abandonné à un refroidissement lent. Le flavonol cristallise alors en belles aiguilles fondant à + 325°.

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE. — Les analyses sont effectuées par voie microchimique sur les produits anhydres.

Daphnéflavonolosite :

pois du corps	= 4,490	CO ²	= 8,895	H ² O	= 2,220
»	»	4,030	»	7,965	H ² O = 2,005
C. p. 100	= 54,0	H. p. 100	= 5,52		
»	53,8	»	5,54		

Daphnéflavonol :

pois du corps	: 4,550	CO ²	= 10,415	H ² O	= 1,705
»	»	4,370	»	9,990	H ² O = 1,675
C. p. 100	= 62,6	H. p. 100	= 4,19		
»	62,3	»	4,27		

FUSION ALCALINE. — Nous exposerons en détail un exemple de cette méthode dans l'étude du flavopurposide (v. p. 59).

0.15 de daphnéflavonol sont projetés dans un creuset d'argent porté à 300° et contenant 3 g. de potasse et 1 g. d'eau. On maintient à cette température pendant 3'. La masse refroidie est reprise par l'eau et on sépare facilement un phénol que nous n'avons pu identifier et un acide phénol qui est l'acide protocatéchique [P. F. + 201°] (coloration verte intense par Cl^3Fe dilué, virant au rouge ponceau par addition de 1 cm^3 de CO^3Na^2 au 1/10 : dégagement de bulles de CO^2 en présence d'une solution de CO^3HNa).

Nous verrons que les flavonols extraits de *S. purpurea* et *nigricans* nous ont fourni, de la même façon, le même acide protocatéchique. Des analyses sont encore nécessaires pour fixer définitivement la constitution de cet hétéroside.

**

Etude des rameaux. — L'invertine donne naissance à 0,228 de sucre réducteur. L'indice 572 est proche de celui du saccharose. S'il existe dans les rameaux, le pourcentage en est très faible : il est vrai que ces rameaux ont été cueillis au début de la végétation.

L'action de l'émulsine est très lente. Il se forme après addition du ferment, un précipité probablement dû à l'action des tanins des rameaux sur les albumines de l'émulsine. Cet essai, pour arriver à l'arrêt de la réaction, nécessite 3 additions successives d'émulsine à 8 jours d'intervalle. La quantité de sucre réducteur formée est très importante ; l'indice de réduction est de 266 ; le reste de l'essai biochimique déféqué, est agité à l'éther. Le solvant abandonne par évaporation des cristaux fondant vers 70° et se colorant en violet intense par Cl^3Fe dilué. La présence du salicoside dans ces rameaux nous semble certaine. Cependant l'indice de réduction est faible, ce qui tient à la présence d'un autre hétéroside. Nous verrons qu'il existe du populoside dans ces rameaux : comme dans le cas des Salicacées renfermant du populoside, l'indice de réduction enzymolytique est faible sous l'action de l'émulsine ; il semble que l'addition du ferment précipite le populoside, ce qui contribue à diminuer l'indice de réduction enzymolytique par diminution de la déviation lévogyre du liquide d'étude.

ESSAI D'EXTRACTION. — 150 cm^3 de liquide aqueux correspondant à 150 g. de rameaux frais sont déféqués par 15 g. de magnésie carbonatée. Il se forme un précipité jaune d'or. L'extrait obtenu après dé-

fécation est repris par 25 cm³ d'alcool à 95° bouillant : après addition de noir animal et filtration, le liquide cristallise. Poids : 1 g.,50. Cristaux blancs, de saveur amère [P. F. 200° ; $[\alpha]_D = -64^{\circ}93$].

C'est du salicoside presque pur que nous avons ainsi recueilli. Le rendement direct en produit pur est considérable (1 p. 100). Le rendement théorique serait de 2 g. p. 100. Nous n'avons d'ailleurs, pas cherché à récupérer le salicoside existant dans les eaux-mères. Celles-ci sont évaporées à sec et dissoutes dans l'eau. La solution, légèrement trouble est agitée à l'éther. Il ne tarde pas à se former des cristaux blancs, insolubles dans l'eau que l'on recueille. Ces cristaux se dissolvent dans l'eau chaude et cristallisent à froid. Leur point de fusion est très net (+ 184°). Traités par la potasse alcoolique, ils développent une odeur très intense de benzoate d'éthyle par suite de la présence du groupe benzoïque. Le corps obtenu est du *populoside* qui existe en petites quantités dans cette écorce.

Les eaux-mères sont additionnées d'émulsine. Au bout de huit jours, la solution est épuisée à l'éther qui abandonne par évaporation des cristaux fondant vers 78° ; c'est du saligénol légèrement souillé d'impuretés.

CONCLUSIONS.

Les feuilles de *Salix Daphnoïdes* Vill., renferment à côté de saccharose et de salicoside isolés à l'état pur, un hétéroside flavonolique, le *Daphnéflavonolosite* dont nous avons étudié les propriétés physiques et chimiques.

Les rameaux de *S. Daphnoïdes* renferment du saccharose. Le salicoside en a été retiré (1 p. 100). Les rameaux contiennent également du *populoside*.

Les écorces de *S. Daphnoïdes* sont colorées en jaune d'or par une substance, différente de l'isosalipurposide, qui est probablement un glucide, mais que nous n'avons pu isoler à l'état pur.

Salix pentandra L.

Cette espèce, aux feuilles vernissées à la face supérieure, se rencontre en grande abondance dans les hautes vallées des Alpes (Vallée de la Guizane et de la Romanche) entre 1.000 et 1800 mètres. Les échantillons analysés sont prélevés sur des arbres situés un peu en dessous du Monétier-les-Bains. Quelques au-

tres spécimens sont ramassés au-dessus de La Grave, au village d'Arsine. Les résultats obtenus sont d'ailleurs identiques.

De nombreux auteurs ont caractérisé le salicoside dans les châtons, les feuilles et l'écorce des jeunes rameaux de cette espèce. [LASCH (*Arch. Pharm.*, 1835 (2), 1, 78 ; HERBERGER (l. c. p. 11) ; BOETTGER (l. c. p. 35)].

	Feuilles	Rameaux déféqués au plomb	Ecorces
α_1	— 26'	— 57'	— 6°39'
α_i	— 1°13'	— 1°32'	— 6°52'
α_e	— 44'	— 39'	— 4°14'
S.R.i.....	0,154	0,420	0,963
S.R.i.....	0,600	0,643	1,298
S.R.e.....	0,745	1,043	1,808
$\Delta \alpha_i$	47'	35'	13'
Δ S.R.i.....	0,446	0,223	0,335
li.....	564	380	1,520
$\Delta \alpha_e$	29'	+ 53'	2°38'
Δ S.R.e.....	0,145	0,400	0,510
le.....	289	453	193

Etude biochimique des feuilles. — Cet essai nous démontre la présence probable de 0.40 environ de saccharose dans les feuilles.

L'indice obtenu sous l'action de l'émulsine est de 289. Le reste de l'essai biochimique est déféqué. Le filtrat est agité à l'éther qui, par évaporation, abandonne des cristaux assez impurs donnant avec Cl^3Fe dilué une coloration violette intense. Nous avons tenté l'extraction du salicoside dont nous pressentions ainsi l'existence.

ESSAI D'EXTRACTION. — Nous avons opéré par défécation magnésienne sur 220 g. de feuilles fraîches. L'extrait obtenu repris par l'alcool à 99° abandonne lentement 0 g.,20 de cristaux incolores, de saveur amère, ayant à l'état brut un pouvoir rotatoire de — 60°,2 et fournissant par hydrolyse à l'émulsine un aglycone fondant à + 84° (saligénol). Une purification dans l'alcool à 95° permet de transformer ce produit en salicoside pur dont la présence dans cette espèce est ainsi confirmée.

Etude biochimique des écorces. — Cet essai est intéressant à plusieurs points de vue.

1° La déviation polarimétrique initiale est forte — 6°39' Le liquide d'extraction (solution aqueuse saturée d'éther) se

conserve mal et laisse déposer un abondant précipité brun : de plus, la formation de ce précipité s'accompagne de la diminution de la déviation lévogyre initiale qui passe de $6^{\circ}39'$ à $4^{\circ}10'$; nous avons effectué sur le liquide un essai biochimique, qui ne figure pas sur le tableau, les résultats étant sensiblement identiques (compte tenu de la diminution importante du pouvoir rotatoire initial). Peut-être est-ce le populoside qui précipite lentement dans le liquide.

2° L'action de l'invertine fournit peu de sucre réducteur, le changement de rotation est très faible ($13'$) ; l'indice de réduction est très élevé (1520). Que penser de cet indice ? Il faut se méfier ici de la précipitation possible d'une partie du produit lévogyre sous l'influence des albuminoïdes de la levure : ce fait fausserait les indications de déviation : l'indice obtenu ne veut pas du tout signifier que nous ayons un autre holoside que le saccharose ; nous ne pouvons rien conclure.

3° L'indice de réduction obtenu sous l'action de l'émulsine est lui, trop faible (en effet nous verrons plus loin que l'écorce renferme du salicoside d'indice 320). Ceci peut tenir à une raison identique à celle mentionnée pour l'action de l'invertine, une précipitation du produit lévogyre par l'émulsine augmentant les différences de lecture polarimétrique et, partant, diminuant l'indice de réduction enzymolytique.

ESSAI D'EXTRACTION. — Une solution aqueuse correspondant à 500 g. d'écorce est défécquée par 100 cm³ d'extraît de Saturne pur. L'opération est poursuivie comme d'habitude. La solution aqueuse extractive, concentrée en extrait, ne cristallise pas ; on l'épuise à 3 reprises par 125 cm³ d'ester acétique hydraté ($\alpha = -5^{\circ}10'$; -2° ; $-40'$). Les solutions estéroacétiques ne cristallisant pas, sont concentrées, d'ailleurs sans plus de résultat, à 125 cm³. La déviation de la solution est alors de $-7^{\circ}50'$. Si nous nous reportons à l'essai biochimique, nous constatons que les 500 g. d'écorce doivent renfermer, au maximum, 4 g.,25 de salicoside donnant dans ces conditions une déviation de $-4^{\circ}20'$. Il existe donc probablement, à côté du salicoside, un produit fortement lévogyre soluble dans l'ester acétique et que d'autres essais nous ont indiqué partiellement précipitable par l'extraît de Saturne, presque entièrement entraîné par une défécation magnésienne ou calcique, peu ou pas hydrolysable par l'émulsine.

Les solutions estéroacétiques sont évaporées à sec et soumises à la défécation magnésienne. Ce qui permet d'obtenir facilement,

après reprise du résidu par une petite quantité d'eau, 0 g.,50 de cristaux de salicoside pur (P. F. = 201° — $[\alpha]_D = -64^{\circ}50$).

Etude biochimique des rameaux. — Nous tentons l'étude des rameaux d'une autre manière : ainsi que nous l'avons dit le principe lévogyre observé au cours de l'étude des rameaux est partiellement précipitable par le plomb. Nous déféquons 850 cm³ d'une solution correspondant à 780 g. de rameaux frais par addition de 500 cm³ d'extrait de Saturne au 1/10 ce qui produit un précipité jaune d'or qui est éliminé. Après les opérations ordinaires, nous obtenons 17 g. d'extrait dont nous prélevons le 1/10 pour l'essai biochimique (v. p. 41) le reste sera traité plus loin. Le liquide d'essai précipite encore par le sous acétate de plomb. L'invertine provoque la formation de sucre réducteur : l'indice obtenu, 380, n'a à notre avis, pas de signification précise.

A l'inverse de l'essai des écorces, l'indice obtenu sous l'action de l'émulsine est un peu fort pour le salicoside (320). Comme dans l'étude des écorces nous ne pouvons pas tirer de renseignements certains de ces résultats.

ESSAI D'EXTRACTION. — Le reste de l'extrait obtenu plus haut est dissous dans l'eau. Il abandonne des cristaux blancs solubles dans l'eau chaude d'où ils cristallisent par refroidissement. Ils fondent à $+180^{\circ}$ et donne la réaction intense du benzoate d'éthyle sous l'action de la potasse alcoolique. C'est du *populoside* qu'une cristallisation dans l'eau amène facilement à l'état pur. Le liquide est encore déféqué par 10 cm³ d'extrait de Saturne : la déviation lévogyre diminue indiquant l'élimination d'un principe lévogyre. Pour obtenir des cristaux, il nous a fallu effectuer une défécation à la chaux. Les liqueurs alcooliques évaporées à sec se prennent en une masse cristalline qui, dissoute dans 50 cm³ d'alcool à 95° fournit facilement 1 g.,20 de *salicoside pur* ($\alpha_D = -65^{\circ}20$; P. F. = 200° ; P. F. aglycone : 84°).

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *Salix Pentandra* renferment probablement du saccharose et sûrement du salicoside (0 g.,23 p. 100 g. de frais). Les écorces et les rameaux contiennent environ 0 g.,80 de salicoside p. 100 g. Le populoside en a été isolé : enfin, signalons la présence, dans cette espèce, d'un produit lévogyre, hydrolysable ou précipitable par l'émulsine, probablement de nature glucosidique, partiellement précipitable par l'ex-

trait de Saturne, entièrement éliminé par une défécation calcaïque ou magnésienne.

Nous supposons, mais ceci est une simple hypothèse, que ce produit est voisin de celui que nous avons rencontré dans les écorces de *Populus* que nous avons analysées (v. p. 128).

Il est d'ailleurs possible que les indices de réduction enzymolytique soient, là aussi, faussés par la précipitation partielle du populoside comme nous l'avons observé dans l'étude des *Populus*.

Salix incana Schrank.

Nous avons rencontré cet arbuste, haut de 5 à 6 m., au Lauzet, à quelques km. du Lautaret (août 1930) ; les feuilles ressemblent beaucoup aux feuilles du *S. Viminalis*, qui ne s'élève jamais à cette altitude (1.900 m.). De même, nous l'avons rencontré en grande abondance sur les bords torrentueux de la Guizane, à Briançon.

Travaux antérieurs : PESCHIER [*Ann. Chim.*, 1830, 44, 418] a isolé le salicoside de l'écorce de *S. Incana*. BRACONNOT (*l. c. p. 11*) n'a pu l'en retirer.

Nous verrons que le salicoside existe bien dans cette espèce, ainsi que l'a montré PESCHIER.

Etude des feuilles. — Après agitation à l'éther de la solution extractive, il se forme quelques cristaux jaunes que nous n'avons pu étudier (probablement un flavonoloside).

	Feuilles	Tiges
α 1	— 1°19'	— 1°45'
α i.	— 2°3'	— 1°50'
α e	— 26'	+ 15'
SR. 1	0,850	0,264
SR. i	1,293	0,705
SR. e	1,99	1,360
Δ α i	44'	51
Δ SR. i	0,443	0,441
I i	608	?
Δ α e	1°37'	2°5'
Δ SR. e	0,697	0,655
I e	432	312

L'essai biochimique démontre la présence du saccharose (indice 608) en petites quantités (0 g., 40 p. 100). L'émulsine provo-

que la formation de 0 g.,697 de sucre réducteur. L'indice de réduction est de 432 nettement supérieur à celui du salicoside. Cependant, après défécation plombique du reste de l'essai biochimique on peut, par agitation à l'éther, obtenir des cristaux, souillés, il est vrai, d'un produit huileux de nature indéterminée, qui fournissent une coloration violette intense sous l'action de Cl^3Fe dilué : la présence du salicoside dans les feuilles de cette espèce nous semble fort probable.

ESSAI D'EXTRACTION. — 300 g. de feuilles sèches sont épuisés à l'alcool, puis déféqués à la magnésie anhydre comme d'habitude. L'extrait est épuisé 5 fois par l'ester acétique hydraté. Les solutions estéroacétiques, concentrées à petit volume, abandonnent 0 g.,20 de salicoside (P. F. = 200° ; $\alpha_D = -62^\circ 3$) légèrement impur. Les eaux-mères de cristallisation évaporées, puis reprises par l'eau et soumises à l'action de l'émulsine permettent d'obtenir du saligénol pur.

Le salicoside existe dans les feuilles de *S. Incana* à côté d'une petite quantité de saccharose.

Etude des tiges. — Il doit également exister dans les tiges un flavonoloside que nous n'avons pu recueillir. L'action de l'invertine se traduit par un recul de la déviation de 5 minutes ; il se forme 0 g.,441 de sucre réducteur. L'indice de réduction ne signifie rien ; nous ne l'avons pas inscrit dans le tableau : la nature du glucide hydrolysable dans ces conditions est inconnue.

L'émulsine provoque un retour de la déviation de $2^\circ 5'$. La formation de 0,655 de sucre réducteur permet de calculer un indice de 312. De plus, le reste de l'essai biochimique épuisé, après défécation, par l'éther, permet d'obtenir des cristaux donnant avec Cl^3Fe une coloration violette très intense. Ces faits nous permettent de penser que les tiges de *Salix Incana* renferment du salicoside (environ 1 g. p. 100 g. de tiges fraîches).

ESSAI D'EXTRACTION. — Il est tenté sur 200 g. de tiges fraîches. Après épuisement à l'alcool bouillant et distillation de l'alcool, le liquide aqueux en résultant est déféqué par addition de 20 g. de MgO . La poudre déféquée est épuisée par l'alcool à 95° qui abandonne par distillation une masse entièrement cristallisée. Les cristaux sont repris par 25 cm³ d'alcool absolu. On obtient ainsi facilement 0 g.,50 de cristaux fondant à $+ 201^\circ 5$. Une cristallisation dans l'eau permet d'obtenir 0 g.,20 de cristaux identiques en tous points au salicoside.

La présence du salicoside dans les tiges de *Salix Incana* est ainsi vérifiée.

Les eaux-mères alcooliques de cristallisation sont évaporées à sec

dans le vide et reprises par 50 cm³ d'eau. La solution légèrement louche (graisses solubles dans l'alcool) est agitée à l'éther. La solution épuisée par ce solvant est abandonnée quelques jours. Il se forme une petite quantité d'aiguilles incolores, que l'on recueille. Le point de fusion instantané est de + 175° ; ce produit est très peu soluble dans l'eau froide, mais soluble à chaud dans ce solvant. Une purification dans l'eau l'amène à un point de fusion stable de 184° ; ces cristaux humectés de potasse alcoolique fournissent une odeur intense de benzoate d'éthyle.

Sous l'action de l'acide sulfurique concentré, le produit se colore en rouge.

C'est du populoside dont la présence a été signalée, en dehors du genre Populus, dans le Salix Purpurea.

Des écorces âgées sont défequées par la magnésie ; elles n'ont pas fourni de populoside et la quantité de salicoside est moindre. On a pu en retirer du saccharose à l'état pur.

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *Salix Incana* renferment à côté de saccharose, du salicoside. Les jeunes rameaux renferment également du salicoside ; j'ai pu isoler facilement de ces organes une petite quantité de populoside.

Les écorces de tiges âgées renferment du saccharose et une quantité de salicoside très inférieure à celle des jeunes rameaux : le populoside n'a pu être retiré de ces écorces.

Salix caesia Vill

Cette espèce n'a fait jusqu'ici l'objet d'aucune recherche. Nous avons rencontré le *S. Caesia* Vill. aux environs immédiats du Châlet botanique du *Lautaret*. Cette espèce nous a semblé très pure.

	Feuilles	Rameaux	Grosses tiges
α l.....	— 27'	— 2°2'	+ 1°27'
α i.....	— 1°17'	— 2°16'	— 58'
α e.....	— 10'	+ 15'	+ 5'
SR.l.....	0,496	0.268	0,500
SR.i.....	1,000	0.588	2,00
SR.e.....	1,418	1,23	2,46
Δ α i.....	50'	14'	2°25'
Δ SR.i.....	0,504	0,320	1,500
I i.....	615	??	622
Δ α e.....	1°7'	2°31'	1°3'
Δ SR.e.....	0,418	0,650	0,46
I e.....	378	257	427

Feuilles. — Les feuilles sont récoltées le 8 juillet 1933. Elles sont bien développées : elles sont traitées, deux jours après, à l'alcool bouillant. L'invertine provoque la formation de 0,504 de sucre réducteur. L'indice de 615 est très voisin de celui du saccharose. L'émulsine donne naissance à 0,418 de sucre réducteur. L'indice est de 378. Le reste de l'essai biochimique est déféqué. Le liquide limpide est agité à l'éther. Par évaporation, on obtient des cristaux se colorant en violet intense par Cl^+Fe dilué, mais fondant au-dessous de 50° . Les feuilles fraîches semblent renfermer du salicoside ; le point de fusion très bas et l'indice de réduction un peu élevé nous indiquent la présence probable d'un autre hétéroside.

ESSAI D'EXTRACTION. — La solution aqueuse correspondant à 200 g. de feuilles fraîches est déféquée par la magnésie carbonatée. Le résidu est repris par l'alcool à 99° . La solution alcoolique, filtrée à froid abandonne bientôt des cristaux de saveur sucrée, pesant 0 g.,10 [$\alpha_D = + 64^\circ$]. C'est du SACCAROSE. Les eaux-mères sont additionnées de 1/2 volume d'éther. Après repos de la solution, il se forme 0 g.,10 de cristaux fondant à $+ 200^\circ$, se colorant en rouge par SO^+H^2 concentré et fournissant du saligénol (P. F. = 84°).

Le salicoside existe donc bien dans les feuilles de *S. Caesia*.

Etude des rameaux. — L'indice obtenu sous l'action de l'invertine 1282 ne signifie rien de précis, le retour de la déviation étant très faible.

Au contraire, le retour de la déviation sous l'action de l'émulsine est très important ($2^\circ 31'$). L'indice de réduction est de 257. Le reste de l'essai biochimique agité à l'éther fournit du saligénol impur.

ESSAI D'EXTRACTION. — La solution aqueuse correspondant à 330 g. de rameaux frais est déféquée par 20 g. de magnésie carbonatée. Nous avons remarqué l'odeur de benzoate d'éthyle au cours de cette opération. Nous n'avons pu, d'ailleurs, retirer le populoside de cette espèce. L'alcool d'épuisement abandonne par évaporation un résidu (4 g.) entièrement cristallisé qui est repris par 50 cm³ d'alcool à 95° . Par refroidissement, on obtient 1 g.,50 de cristaux blancs de saveur amère se colorant en rouge par SO^+H^2 concentré ($\alpha_D = - 61^\circ 2$; P. F. = 198°) et donnant par hydrolyse à l'émulsine un groupement prosthétique (P. F. = $+ 84^\circ$). Le corps ainsi obtenu est du salicoside presque pur qui est facilement purifié dans l'alcool à 95° .

Les rameaux renferment du salicoside en quantités importantes (1 p. 100 environ).

Etude des grosses tiges. — Ces organes sont prélevés le 15 août au Lautaret. L'action de l'invertine nous indique la présence d'une forte quantité de saccharose (1 g.,50). L'émulsine donne naissance à 0 g.,46 de sucre réducteur. L'indice est de 427. Le résidu de l'essai, traité comme dans les essais précédents, abandonne des cristaux fondant au-dessous de 50° et se colorant en violet intense par Cl^3Fe dilué. La présence du salicoside est donc probable dans ces rameaux ; peut-être y existe-t-il un hétéroside d'indice plus élevé.

ESSAI D'EXTRACTION. — Nous avons remarqué une odeur poivrée présentée par la teinture alcoolique de ces organes. La solution aqueuse, équivalant à 150 g. de grosses tiges, est déféquée par 20 g. de magnésie carbonatée. Le liquide alcoolique, filtré après refroidissement, abandonne 0 g.,55 de cristaux de saveur sucrée ($[\alpha]_D = + 65^\circ 0$).

C'est du saccharose.

Le liquide alcoolique est évaporé à sec. Il est épuisé par 60 cm³ d'ester acétique hydraté qui abandonne lentement 0 g.,12 de cristaux fondant à $+ 198^\circ 5$, $[\alpha]_D = - 55^\circ 5$, se colorant en rose par SO^4H^2 concentré et donnant, sous l'action de l'émulsine, du saligénol P. F. = $+ 84^\circ$. Par concentration, on obtient 0 g.,20 de cristaux identiques.

Une purification dans l'ester acétique fournit du salicoside pur.

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *S. Caesia* L. renferment à côté de saccharose, isolé à l'état pur, du salicoside.

Les rameaux renferment une forte proportion de salicoside (1 g. p. 100).

Les grosses tiges renferment du saccharose en quantités importantes (1 g.,50) et du salicoside en proportion plus faible que dans les jeunes rameaux.

Salix hastata L.

PESCHIER a isolé le salicoside des écorces de *S. Hastata* [l. c. p. 44].

Il est très commun aux environs immédiats du col du Lautaret ; j'ai employé pour mes essais des tiges et des feuilles fraîches cueillies en août 1930. Les résultats de l'essai biochimique sont les suivants :

	Feuilles	Tiges (après défécation au Pb)
α_1	— 44'	— 1°48'
α_i	— 39'	— 4°12'
α_e	+ 18'	+ 10'
SR. i SR. i SR. e $\Delta \alpha_i$ Δ SR. i I i $\Delta \alpha_e$ Δ SR. e I e.....	0,132 0,202 0,504 4' 0,07 ? 57' 0,302 318	0,61 2,29 3,52 2°24' 1,68 700 4°22' 1,23 280

Etude des Feuilles. — L'invertine provoque un faible retour de la déviation *vers la droite* ; il se forme une petite quantité de sucre réducteur sous l'action de ce ferment. Nous ne pouvons rien affirmer sur la nature du glucide hydrolysé par ce ferment. L'émulsine amène un retour vers la droite de 57'. L'indice est de 318 tout à fait proche de celui du salicoside. De plus, le reste de l'essai biochimique est épuisé à l'éther après défécation plombique. L'éther abandonne des cristaux assez impurs mais fournissant une coloration violette intense avec le perchlorure de fer dilué. Bien que nous n'ayons pu retirer le salicoside de ces feuilles étant donné la faible quantité dont nous disposions, sa présence dans ces organes nous semble fort probable.

Etude des tiges. — Nous avons effectué un essai après défécation partielle du liquide d'essai à l'extrait de Saturne, car la quantité de tanin renfermée dans cette espèce est très grande, l'action des ferments est de ce fait extrêmement lente. Après élimination du plomb restant en solution, l'essai est conduit comme d'habitude.

L'action de l'invertine nous permet, malgré un indice un peu élevé, de penser à la présence du saccharose ; l'action de l'émulsine nous fournit un indice de réduction de 280. L'essai d'extraction va nous montrer que l'hétéroside hydrolysé est du salicoside probablement accompagné d'un autre glucide à indice de réduction plus faible.

ESSAI D'EXTRACTION. — Un premier essai est effectué par défécation au plomb comme à l'ordinaire sur 500 g. de tiges. Le sirop obtenu après évaporation des liqueurs déféquées ne cristallise pas. Nous

l'avons épuisé à plusieurs reprises par l'ester acétique hydraté. Par concentration au 1/5, la liqueur fournit des cristaux (poids 2 g.) qui sont purifiés par cristallisation dans l'alcool absolu (Poids = 1 g.,50) [P. F. = 202° ; $[\alpha]_D = -63^{\circ}5$]. L'acide sulfurique les colore en rouge vif, l'émulsine fournit du glucose et du saligénol (P. F. = 84°).

Le produit ainsi isolé est du *salicoside*.

Un autre essai d'extraction est tenté par défécation de 300 g. de tiges fraîches par la magnésie non carbonatée. Le résidu obtenu est *entièrement cristallisé*. On le reprend par 50 cm³ d'alcool absolu et on obtient facilement 3 g. de cristaux purs ; c'est aussi du *salicoside* ; le rendement est, dans ce cas, *triple* de celui obtenu dans la défécation plombique. De plus, les eaux-mères abandonnées à elles-mêmes, abandonnent au bout de huit jours des cristaux différents ; ils possèdent à l'état brut une saveur sucrée ($[\alpha]_D = +60^{\circ}02$). Le produit est hydrolysable par l'invertine ou les acides très dilués en donnant du sucre inverti : c'est du *saccharose* que nous avons obtenu pur en effectuant une cristallisation de ce produit dans l'alcool à 90°.

Les eaux-mères de cristallisation sont évaporées à sec et reprises par un petit volume d'eau. On agite à l'éther : le liquide sert à effectuer un essai biochimique. L'action de l'émulsine est intéressante ; elle démontre la formation dans ce liquide de 0 g.,75 de sucre réducteur. L'indice est de 247 nettement plus faible que celui du salicoside. De plus, le reste de cet essai est agité à l'éther. Après évaporation, on obtient quelques cristaux de saligénol englués d'une huile jaune d'or.

Nous pensons qu'il existe dans les tiges de *Salix hastata*, une petite quantité d'un hétéroside différent du salicoside. Nous n'avons pu ni l'isoler, ni l'identifier.

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *Salix hastata* renferment probablement du salicoside. Les tiges renferment, à côté de saccharose isolé à l'état pur, une grande quantité de salicoside (environ 2 g. p. 100) accompagné d'une petite quantité d'un glucide (probablement un hétéroside), hydrolysable par l'émulsine, qui n'a pas été isolé.

Salix nigra Marsch.

Nous avons pu, grâce à l'obligeance de M. WILSON que nous sommes heureux de remercier ici, recevoir de l'Arnold Arboretum (Massachusetts) 3 kg.,420 de rameaux frais de *Salix Nigra* Marsch. Ces jeunes rameaux fournissent 720 g. d'écorce qui est

traitée par la méthode ordinaire. L'essai biochimique donne les résultats suivants :

$\alpha_1 + 3^{\circ}12'$	SR. 1 0,57	$\Delta \alpha_i 3^{\circ}12'$	$\Delta \alpha_e 1^{\circ}12'$
$\alpha_i - 0^{\circ}$	SR. i 2,39	$\Delta \text{SR. } i 1,82$	$\Delta \text{SR. } e 0,34$
$\alpha_e + 1^{\circ}12'$	SR. e 2,73	I i 568	I e 283

L'invertine provoque un important recul de la déviation ($3^{\circ}12'$). L'indice de réduction est de 568 ; quoiqu'il soit légèrement faible, je pense que le produit hydrolysable par l'invertine est du saccharose.

Le retour de la déviation provoqué par l'émulsine est faible ($1^{\circ}12'$). L'indice de réduction est de 283.

ESSAI D'EXTRACTION. — L'essai biochimique ne nous permet pas de déterminer la nature du glucoside hydrolysable par l'émulsine. Nous en avons tenté l'extraction sur 620 g. d'écorce fraîche. Après une défécation à l'extract de Saturne pratiquée comme d'habitude, l'extract obtenu est épuisé à 3 reprises par 250 cm³ d'ester acétique hydraté bouillant. La première solution extractive abandonne, après repos, 0 g.,25 de cristaux blancs en fines aiguilles. Par concentration des solutions estéroacétiques, il se forme encore 0 g.,40 de cristaux. Les 2 portions sont réunies et purifiées par cristallisation dans l'alcool à 95°. On recueille ainsi 0 g.,40 : c'est du *salicoside pur*.

L'extract épuisé par l'ester acétique est repris à 2 reprises par 50 cm³ d'alcool à 95°. Après un long repos, il se forme 0 g.,40 de cristaux incolores de saveur sucrée qui sont purifiés par une cristallisation dans l'alcool à 90°. Leur pouvoir rotatoire immédiatement stable est de $[\alpha]_D = + 65^{\circ}02$. C'est du saccharose.

CONCLUSIONS. — Ainsi que l'avaient constaté JOWETT et POTTER [l. c. p. 101] le *Salix nigra* Marsch ne renferme pas de picéoside. L'écorce des jeunes rameaux de cette espèce renferme, à côté de 1 g.,70 p. 100 de saccharose une faible quantité (0 g.,50 p. 100) de salicoside.

Pour terminer cette étude, il serait nécessaire d'examiner une écorce âgée : la composition des rameaux d'un an est parfois différente de celle des écorces plus vieilles, ainsi que nous l'a démontré l'étude de *Salix nigricans*.

Salix helvetica Vill.

Les tiges de *Salix Helvetica*, seules étudiées ici, sont récoltées sur les contreforts du Mont Viso. Cette espèce est absolument typique. Les échantillons prélevés sont rampants ; on les arra-

che du sol et ils sont mis à sécher au soleil. Les rameaux secs sont traités quelques jours après par l'alcool bouillant.

Tiges sèches.

$\alpha 1 - 1^{\circ}19'$	SR. 1 0,316	$\Delta \alpha i 1^{\circ}1'$	$\Delta \alpha e 2^{\circ}50'$
$\alpha i - 2^{\circ}20'$	SR. i 1,061	$\Delta SR. i 0,745$	$\Delta SR. e 0,80$
$\alpha e + 30'$	SR. e 1,860	Ii 742	Ie 282

L'examen de cet essai nous montre que les tiges sèches renferment un glucide hydrolysable par l'invertine qui est peut être du saccharose malgré un indice un peu élevé. L'émulsine donne naissance à 0 g.,80 de sucre réducteur. L'indice est de 282 : le reste de l'essai biochimique, agité à l'éther, permet d'obtenir des cristaux incolores fondant à $+ 76^{\circ}$ et se colorant en violet intense par Cl^3Fe dilué. Le glucide hydrolysable par l'émulsine est probablement du salicoside. Le point de fusion du saligénol formé par hydrolyse fermentaire est voisin de celui du saligénol pur. Nous pensons que le salicoside est le seul hétéroside des tiges de *S. Helvetica* hydrolysable par l'émulsine.

ESSAI D'EXTRACTION. — L'essai est tenté sur 100 g. de tiges sèches par défécation magnésienne. Le résidu est repris par 30 cm³ d'ester acétique hydraté. On obtient ainsi 0 g.,30 d'un produit fondant à 198° . Une cristallisation dans l'eau distillée fournit un produit fondant à $+ 202^{\circ}$ ($[\alpha]_D = - 63^{\circ}5$) rougissant par SO^4H^2 concentré. C'est du *salicoside* pur.

CONCLUSION. — Comme glucide hydrolysable par l'émulsine, les tiges de *S. Helvetica* ne renferment que du salicoside (1 g.,30 p. 100 g. de tiges sèches).

Salix herbacea L.

Nous avons rencontré en grande abondance cette espèce minuscule (elle ne dépasse pas 2 cm.) sur les prairies du *Galibier* et du col de la *Ponsonnière* et ça et là, en de nombreux endroits des Alpes.

Nous n'avons analysé que les tiges privées de feuilles et attenantes aux courtes racines ; encore n'avons nous pu recueillir qu'à grand peine 123 g. de ce matériel.

$\alpha 1 - 1^{\circ}2'$	SR. 1 0,855	$\Delta \alpha i 2^{\circ}55'$	$\Delta \alpha e 2^{\circ}45'$
$\alpha i - 3^{\circ}57'$	SR. i 2,66	$\Delta SR. i 1,805$	$\Delta SR. e 0,74$
$\alpha e - 1^{\circ}12'$	SR. e 3,40	Ii 618	Ie 270

L'action de l'invertine nous indique la présence d'une forte quantité de saccharose (1,75 p. 100), l'indice étant de 618.

L'émulsine provoque la formation de 0,74 de sucre réducteur l'indice étant égal à 270. Le reste du liquide d'essai, agité à l'éther après défécation, permet d'isoler des cristaux impurs se colorant en violet intense par Cl^3Fe dilué.

ESSAI D'EXTRACTION. — Il ne nous reste que 75 g. de racines et de tiges. Après défécation magnésienne, l'extract est repris par l'ester acétique. On décante au bout de 2 jours : l'ester acétique abandonne alors 0 g.,20 de cristaux blancs fondant à $+ 200^\circ$ et se colorant en rose par SO^4H^2 . Une cristallisation dans l'alcool fournit du *salicoside* tout à fait pur.

L'extract épuisé par l'ester acétique est repris par quelques cm^3 d'alcool absolu ; on obtient ainsi 0 g.,15 de cristaux de saveur sucrée $[\alpha]_D = + 65^\circ 5$; c'est du *saccharose*.

CONCLUSION. — Les tiges et les racines de *S. Herbacea* renferment à côté du saccharose, du salicoside qui a été isolé à l'état pur.

Salix purpurea L.

Le *Salix purpurea* est une espèce qui atteint 4 à 5 mètres de hauteur mais qui forme le plus souvent des buissons aux tiges grêles. Deux caractères faciles permettent de le reconnaître sûrement. Les feuilles sont toujours régulièrement *opposées* ; dans les autres espèces, elles sont alternes ; si nous soulevons l'écorce d'une branche de 7 à 8 ans, nous constatons que la zone libérienne en contact avec le bois est *jaune d'or*. Cette couche est d'ailleurs très mince pour les écorces examinées ; sur les très vieux troncs, elle peut atteindre 1 mm.

Nous avons rencontré cette espèce par toute la France ; des échantillons sont prélevés dans la haute vallée de la Romanche (1700 m.), mais nous n'avons analysé que des spécimens typiques rencontrés sur la Loire, dans l'île Charlemagne à Orléans. Ils forment à cet endroit un peuplement serré où alternent les pieds mâles et les pieds femelles. Quelques pieds sont très âgés (ils ont, hélas, été arrachés cette année) et nous ont servi à prélever la zone cambiale libérienne destinée à l'obtention de l'isosalipurposide.

On peut facilement distinguer en hiver, les pieds mâles des pieds femelles. Les rameaux mâles d'un an ont une coloration *rougeâtre* alors que les rameaux femelles sont *verts*. A quelques mètres, il est

facile de comparer les 2 espèces, si elles sont voisines. On peut établir un certain rapport entre la coloration des rameaux et celles des châtons : en effet, les fleurs mâles sont d'un beau rouge, alors que les fleurs femelles sont verdâtres ; quand l'arbre est couvert de feuilles, il est plus difficile de se prononcer avec sûreté.

HISTORIQUE. — Nous verrons que la composition chimique du *S. Purpurea* est très complexe. C'est dans la variété *Helix* que LEROUX découvrit le salicoside. De nombreux auteurs se sont intéressés depuis au *Salix Purpurea*.

LASCH [l. c. p. 41], HERBERGER [*Jarhr prakt. Pharm.*, 1838, 1, 157], BOETTGER [l. c. p. 35] ont retrouvé le salicoside dans cette espèce. Les teneurs varient d'ailleurs, dans les écorces fraîches, de 3.83 à 7.4 p. 100. De plus, ils ont pu isoler du *populoside* : c'est la seule espèce de *Salix* qui renferme cet hétéroside si fréquent dans le genre *Populus*. Nous avons retrouvé le populoside dans 3 autres salicacées, *S. Pentandra*, *daphnoïdes* et *incana*.

Th. WEEVERS [l. c. p. 19] a pu également isoler le populoside des feuilles de *S. purpurea* ; mais on ne peut tenir aucun compte des dosages qu'il en a effectué, les erreurs qu'entraînent ses méthodes peuvent être énormes.

Nous avons repris entièrement l'étude de cette espèce. M. C. CHARAUX a pu retirer de l'écorce deux hétérosides nouveaux, le *salipurposide* et l'*isosalipurposide* dont nous avons effectué l'analyse et déterminé la constitution [*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1931, 13, 588 et 814. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, 196, 816]. J'ai isolé des feuilles le populoside, déjà signalé, et un autre hétéroside flavonique, le *flavopurposide*. La composition chimique de cette espèce est donc fort complexe et mérite une étude détaillée.

ÉTUDE DES FEUILLES DE *SALIX PURPUREA*

Les feuilles oblongues, opposées, sont d'un vert sombre sur la face supérieure, la face inférieure étant glauque ; elles possèdent la propriété, très commune parmi les Salicacées, de noircir intensément au cours de l'autolyse ; ce phénomène, étudié par Th. WEEVERS, sera examiné dans la seconde partie de notre travail.

Nous avons analysé des feuilles provenant des environs de Briançon et de l'Île Charlemagne (Orléans) ; leur composition est qualitativement semblable.

Les feuilles fraîches sont rapidement traitées à l'alcool bouillant et les opérations sont continuées selon la technique habituelle ; cependant, il faut remarquer qu'il est facile de dessécher les feuilles de *S. purpurea* sans en provoquer le noircissement ; un séjour de quelques heures en couche mince à l'étuve à 30° fournit des feuilles sèches bien vertes ; au contraire, les rameaux très jeunes, organes plus charnus, ne peuvent être desséchés sans qu'une autolyse partielle n'en provoque le noircissement.

La solution aqueuse épuisée à l'éther et correspondant à son poids de feuilles est abandonnée dans un endroit frais ; il apparaît au bout d'un mois environ des cristaux jaunes très fins. Au bout de 3 mois, la cristallisation semblant terminée, on sépare les cristaux par filtration ; c'est le *flavopurposide* impur qui sera analysé plus loin. Le liquide aqueux est soumis à l'essai biochimique.

$\alpha 1 - 2^{\circ}8'$	SR. 1 0,888	$\Delta \alpha i 31'$	$\Delta \alpha e 3^{\circ}39'$
$\alpha i - 2^{\circ}39'$	SR. i 1,21	$\Delta SR. i 0,322$	$\Delta SR. e 1,36$
$\alpha e + 1^{\circ}$	SR. e 2,57	Ii 641	Ie 372

L'action de l'invertine nous permet de penser à la présence dans ces feuilles d'une petite quantité de saccharose (0.30 environ).

Il se forme 1 g.,36 de sucre réducteur sous l'action de l'émulsine. L'indice de réduction obtenu, 372, est proche de celui du salicoside.

D'ailleurs, le reste de l'essai biochimique est agité à l'éther. L'éther est évaporé et l'extrait est repris par 10 cm³ d'eau et 0 cm³,5 d'extrait de Saturne, le précipité formé est essoré et lavé. Les eaux-mères, agitées à l'éther, lui cèdent du *saligénol* presque pur ; au contraire le précipité plombique décomposé par SH² fournit, par extraction à l'éther, un résidu huileux se colorant en vert foncé par Cl³Fe dilué : cette coloration vire au rouge vineux par l'addition de 0 cm³,5 de CO³ Na² à 5 p. 100.

Ces réactions font penser au pyrocatechol dont nous verrons l'importance lors de la discussion des travaux de WEEVERS (v. p. 147) : la quantité de salicoside serait voisine de 2 g.,25 par 100 g.

ESSAI D'EXTRACTION. — Le liquide aqueux correspondant à 100 g. de feuilles fraîches est traité par défécation plombique. L'extrait obtenu, repris par l'eau, n'abandonne pas de cristaux. Evaporé à sec et épuisé par l'ester acétique hydraté suivant le mode général, il permet d'obtenir 0 g.,75 de salicoside pur p. 100

g. de feuilles fraîches. Les eaux-mères permettent d'isoler facilement 0,20 de saligénol. Si, au contraire, on défèque par un lait de chaux ou par la magnésie, il se forme dans la solution aqueuse déféquée, épuisée à l'éther, des cristaux de *populoside* (environ 0 g.,10 p. 100 g. de feuilles fraîches).

Ce rendement est légèrement supérieur dans le cas de la défécation magnésienne. Nous avons observé, au cours de la défécation calcique, l'odeur caractéristique du benzoate d'éthyle. Ceci tient à la saponification partielle du *populoside* par l'alcali. Dans ce cas, on aurait avantage à effectuer cette opération aux environs de 0°.

Le rendement en salicoside est supérieur à celui de la défécation plombique et atteint 1 g.,25 pour la défécation magnésienne, 1 g.,10 pour la défécation calcique.

Il est intéressant de noter que les défécants alcalins nous permettent d'obtenir le *populoside*. Un pareil fait fut observé dans l'étude de *Salix Incana* et *Daphnoïdes*.

La défécation plombique ne produit aucune saponification : seulement, le précipité formé au sein du liquide entraîne le *populoside* très peu soluble dans l'eau froide ; il faudrait, comme le préconise Th. WEEVERS, effectuer la défécation à chaud ; le *populoside* soluble dans l'eau bouillante, n'est plus entraîné par le précipité et cristallise dans la liqueur.

LE FLAVOPURPOSIDE.

EXTRACTION. — Elle est très simple, l'hétéroside étant insoluble dans l'eau. 500 g. de feuilles fraîches de *Salix purpurea* L. sont épuisées à 2 reprises par 5 l. d'alcool à 95° bouillant. Les liqueurs alcooliques sont distillées pour en séparer l'alcool. La liqueur aqueuse (environ 500 cm³) est alors agitée avec son volume d'éther, à 2 reprises, puis versée dans un flacon et conservée au frais. Au bout de 2 mois apparaissent de petites boules jaunes, formées de cristaux fortement agglomérés. On les recueille sur un filtre de BÜCHNER quand la cristallisation semble terminée. Les cristaux, lavés avec un peu d'eau distillée, sont desséchés dans le vide sulfurique.

500 g. de feuilles fraîches fournissent 0 g.,80 de produit sec. C'est le *flavopurposide*.

PURIFICATION. — Le produit brut ainsi obtenu est presque pur ainsi que l'indique déjà le point de fusion. Pour le purifier complètement, il est dissous dans l'eau bouillante et la solution est

abandonnée, au bain-marie chaud, à un refroidissement très lent. Le produit cristallise alors en fuseaux à bords crénelés. De même, une cristallisation dans l'alcool à 40°, avec refroidissement lent, fournit de beaux cristaux. Ces purifications n'élèvent pas le point de fusion.

Les propriétés physiques et chimiques ont été étudiées sur le produit ayant cristallisé dans l'alcool à 40°.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — C'est une poudre cristalline jaune verdâtre, soluble dans l'alcool à 95°, très peu soluble dans l'eau froide, soluble dans l'eau bouillante et dans l'acide acétique. Le flavopurposide charbonne vers 250° : le point de fusion instantané est de + 283°. Le produit fond en un liquide jaune qui charbonne presque immédiatement.

Desséché à l'étuve de BOUILLOT [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, 5, 268], il perd 4,08 p. 100 d'eau. A l'air humide, le flavopurposide reprend rapidement son eau de cristallisation. Son pouvoir rotatoire déterminé en solution dans l'alcool à 90° est de (anhydre) :

$$\alpha_D = - 63^{\circ}3 \text{ (p = 0,05 : l = 5 : v. = 50 : } \alpha = - 19^{\circ})$$

Le flavopurposide se dissout dans les lessives alcalines en se colorant en jaune orange. Dissous dans l'acide sulfurique pur, il donne une fluorescence verdâtre.

Ces caractères nous indiquent que nous avons affaire à un flavonolosite.

Le flavopurposide est hydrolysable par les acides dilués à l'ébullition.

On fait bouillir, au réfrigérant à reflux, 0 g.,20 de flavopurposide hydraté avec 20 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100. Le produit se dissout lentement, puis, apparaissent des cristaux jaunes ; c'est le produit non glucidique de dédoublement, le *flavopurpol*. Au bout de 3 heures, l'hydrolyse est terminée et le liquide est abandonné au repos pendant 12 heures. On recueille alors sur un creuset de Gooch taré, le flavopurpol qui est lavé avec de l'eau et séché dans le vide sulfurique à poids constant : il pèse 0 g.,1333.

Le flavopurposide anhydre fournit 69,4 de flavopurpol.

Les eaux-mères et les eaux de lavage réunies présentent une déviation polarimétrique dextrogyre. On constate que le flavopurposide fournit, par hydrolyse, 36,0 p. 100 d'un sucre réducteur de pouvoir rotatoire voisin de + 54°5 dont l'osazone présente la forme typique de la glucosazone et fond en même temps que l'osazone de ce sucre préparée dans les mêmes conditions (229°),

Le flavopurposide fournit 36 p. 100 de glucose par hydrolyse.

Le flavopurpol obtenu par hydrolyse acide est pur : on peut le faire cristalliser dans un mélange, à parties égales d'acide acétique, d'alcool à 95° et d'eau. On obtient ainsi des cristaux prismatiques, jaunes, groupés en oursins. Leur point de fusion instantané est de $+ 339^{\circ}$; le flavopurpol charbonne immédiatement après la fusion.

Le flavopurposide donne donc naissance, par hydrolyse sulfurique, à du *glucose* et à du *flavopurpol*.

ANALYSE DU FLAVOPURPOSIDE. — Les petites quantités de produits obtenus nous ont incité à employer les méthodes micro-analytiques que nous avons pratiquées au laboratoire de micro-analyse de l'Institut de Chimie biologique de Strasbourg. Nous sommes heureux d'exprimer ici, à M. le Professeur NICLOUX, l'expression de notre sincère reconnaissance.

La perte en eau du flavopurposide est de 4,5 p. 100 : elle a été déterminée par dessiccation du produit dans le vide à $+ 80^{\circ}$.

1° Poids du corps :	4.410 hydraté	CO ² = 8.605	H ² O = 2.090
	4.212 anhydre		= 1.900

2° — —	4.190 hydraté	CO ² = 8.190	H ² O = 1.960
	4.000 anhydre		= 1.780

ce qui donne pour le produit anhydre :

1° C = 55,72 H. = 5,02 Calculé par C²²H²⁴O¹²

2° C = 55,97 H. = 4,97 C = 55,0 H = 5,00

Le flavopurpol ne contient pas d'eau de cristallisation :

1° Poids du corps : 4.410 CO² = 9.565 H²O = 1.765

2° — — — 4.605 — = 10.010 — = 1.820

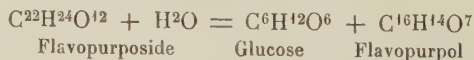
C = 59,15 H. = 4,47

C = 59,28 H. = 4,42

Calculé pour C₁₆H₁₄O₇ C = 60,38 H = 4,40

Le corps ne renferme pas de groupement méthoxylé.

L'équation d'hydrolyse serait la suivante :



La formule du flavopurposide est C²²H²⁴O¹², H²O ce qui correspond à une teneur en eau de 3,75 (trouvé 4,0 et 4,5).

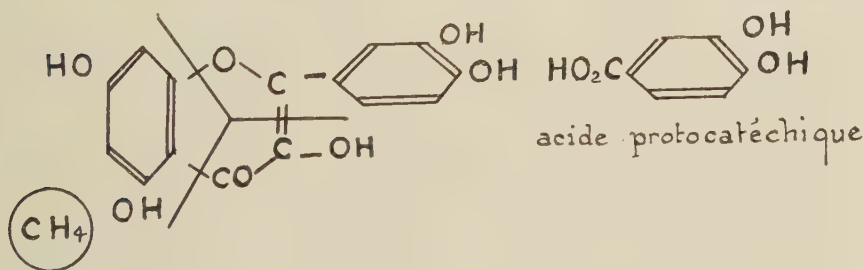
L'équation d'hydrolyse du produit anhydre doit nous fournir 37,4 p. 100 de sucre réducteur exprimé en glucose : nous avons trouvé 36,0.

ANALYSE DU FLAVOPURPOL. — Ce corps ayant de nombreuses analogies physiques avec les flavonols, nous l'avons soumis à la fusion alcaline.

0 g.,15 de flavopurpol sont projetés dans un creuset d'argent renfermant 3 g. de potasse et 1 cm³ d'eau, maintenus à 300° pendant 5 minutes. Le mélange est refroidi, dissous dans l'eau, acidifié par ClH et agité deux fois à l'éther qui s'empare du phénol et de l'acide formés par la fusion. L'éther est décanté et agité avec une solution aqueuse saturée de CO³ HNa qui s'empare de l'acide. Le phénol reste en solution étherée ; on ajoute du noir animal et on filtre. L'éther par évaporation fournit un produit blanc qu'il n'a pas été possible de purifier. La solution bicarbonatée est acidifiée par ClH et agitée à l'éther qui s'empare de l'acide. L'éther est additionné de SO⁴Na² anhydre et de noir animal, filtré, puis évaporé à sec. Le produit est dissous dans l'eau chaude, additionné de noir animal, filtré, la solution est encore épuisée à l'éther qui abandonne par évaporation un produit bien cristallisé, fondant à + 200°-201°, soluble dans l'eau surtout à chaud, dégageant des bulles de CO² en présence de CO³ HNa saturé (sous le microscope), se colorant en vert intense par Cl³Fe dilué. Cette coloration vire au rouge violacé par addition de quelques gouttes de CO³Na² à 5 p. 100.

C'est de l'acide protocatéchique (P. F. = 199°-200°).

La formule développée du flavopurpol serait la suivante, analogue à celle des flavonols.



Seul reste indéterminé un groupe CH⁴ ; nous n'avons pu terminer cette étude étant donné les faibles rendements en hétéroside pur.

ÉTUDE DES RAMEAUX.

Les rameaux de *Salix Purpurea* L. renferment du salicoside. M. C. CHARAUX a découvert récemment dans les écorces de *S. Purpurea* deux nouveaux hétérosides, le salipurposide et l'iso-salipurposide, dont j'ai poursuivi l'étude et déterminé la constitution [*l. c.* p. 54]. Les hétérosides présents dans cette écorce sont donc au nombre de trois, au minimum. Nous examinerons, tout d'abord, la répartition de ces différents produits ; nous étudierons ensuite leurs propriétés et leur constitution.

ETUDE MORPHOLOGIQUE. — Les rameaux de *S. Purpurea* peuvent présenter plusieurs aspects.

1° Les rameaux qui poussent par récépage forment des pousses effilées qui atteignent en quelques mois 1 m. de long ; elles sont vertes et noircissent intensément par la dessiccation. Contusés et imbibés de potasse alcoolique, ils fournissent une odeur faible de benzoate d'éthyle. Le populoside existe probablement dans ces rameaux.

2° Les rameaux d'un an normaux ont une longueur de 10 cm. environ et présentent les phénomènes de dimorphisme sexuel déjà signalés. Il est à noter que les rameaux femelles vert jaunâtre, sont légèrement plus allongés que les rameaux mâles, rougeâtres. L'épiderme est lisse et il est recouvert d'une cire dont l'étude, encore peu avancée, ne figure pas dans ce travail. La réaction du benzoate d'éthyle est très intense.

3° Les rameaux de 2 ans et plus sont gris ; l'écorce est lisse et d'apparence d'autant moins vernissée que l'écorce est plus âgée. La réaction du benzoate d'éthyle est beaucoup moins intense.

4° Les tiges très âgées sont recouvertes d'un suber peu épais : leur surface est craquelée longitudinalement. La réaction du benzoate d'éthyle est très faible.

L'examen de l'écorce est également intéressant. Le parenchyme cortical est jaune verdâtre, mais la face interne du liber est colorée en jaune ; cette portion jaune est excessivement mince et peu marquée dans les jeunes rameaux. Au contraire, les rameaux plus âgés (3-4 ans) ont la face interne de l'écorce nettement jaune d'or. La portion de l'écorce ainsi colorée croît avec l'âge et peut atteindre 1 mm. environ sur les très vieilles souches : on constate également un accroissement de cette partie

jaune quand il y a augmentation de tissu libérien ; ainsi, à la naissance des rameaux sur le tronc, on trouve un bourrelet jaune d'or ; si on effectue une décortication annulaire au début de l'été (15 juin), on constate la formation d'un bourgeon qui tend à rejoindre les 2 bords de la cicatrice : la portion interne jaune contenue dans ce bourgeonnement est assez importante et nous a permis d'enrichir ainsi artificiellement l'écorce.

Les gros rameaux qui ont subi la décortication annulaire n'en continuent pas moins une croissance en apparence normale ; ils n'ont pas souffert d'un été très chaud, cependant, le printemps suivant, ils n'ont pu reprendre leur végétation et sont morts.

ETUDE BIOCHIMIQUE. — Elle est effectuée sur de nombreux échantillons dont certains seulement sont comparables entre eux ; comme nous le verrons dans l'étude critique des travaux de Th. WEEVERS sur ce sujet, il est difficile de tirer des conclusions certaines de l'étude d'une plante dont la composition glucidique est aussi complexe : aussi doit-on considérer les résultats ci-après mentionnés comme des sujets d'investigations sur un végétal qui recèle peut-être encore d'autres glucides intéressants.

1° *Très jeunes rameaux (Rameaux de recépage)*. — Dans la préparation du liquide d'essai nous n'avons observé aucune cristallisation. La quantité de sucre réducteur fournie par l'invertine est de 0.783 ; l'indice est tout à fait proche de celui du saccharose. Ces organes renferment donc 0 g.,75 environ de saccharose à côté de 0 g.,50 de sucre réducteur initial. L'action de l'émulsine est très rapide (moins de 15 jours) ; l'indice obtenu est très voisin de celui du salicoside. La teneur en salicoside est voisine de 2,9 p. 100. La composition glucidique de ces organes est donc analogue à celles des feuilles.

2° Les six essais suivants sont relatifs à des rameaux d'âges différents. Les prélèvements sont effectués sur des pieds voisins dans des conditions à peu près identiques. Les rameaux mâles montrent leurs châtons avant les rameaux femelles.

La quantité de sucre réducteur initial est pratiquement la même dans les rameaux de même âge, ♂ ou ♀. Les teneurs en glucides hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine sont aussi très voisines. Les indices de réduction enzymolytique sont semblables. Ainsi les rameaux ♂ ou ♀ possèdent une composition glucidique très voisine. Nous reviendrons plus loin sur ces expériences (v. p. 145).

	Très jeunes rameaux	Rameaux ♂ 1 an	R. ♀ 1 an	R. ♂ 2 ans	R. ♀ 2 ans	R. ♂ 3, 4 ans	R. ♀ 3, 4 ans	R. ♂ 23 Mars	R. ♀ 23 Mars	R. ♀ 5 Mai	Ecorce interne sèche
	Août	4 Mars	4 Mars	4 Mars	4 Mars	4 Mars	4 Mars	23 Mars	23 Mars	5 Mai	
α 1.....	— 2°30'	— 3°42'	— 5°12'	— 2°34'	— 3°21'	— 1°6'	— 1°39'	— 4°32'	— 5°32'	— 1°37'	— 4°53'
α i.....	— 3°49'	— 5°11'	— 6°18'	— 3°44'	— 4°44'	— 2°6'	— 2°59'	— 5°40'	— 6°56'	— 1°37'	— 6°41'
α e.....	+ 1°11'	+ 29'	+ 25'	+ 2'	— 8'	+ 30'	+ 33'	+ 20'	+ 10'	+ 12'	+ 1°18'
SR. l.	0,517	0,530	0,458	0,460	0,366	0,360	0,326	0,477	0,640	0,117	1,208
SR. i.....	1,300	1,418	1,214	1,15	1,24	0,975	1,17	1,043	1,509	0,203	2,32
SR. e.....	3,030	2,62	2,52	1,917	2,18	1,57	2,00	2,211	2,961	0,552	4,22
Δ α i.....	1°19'	1°29'	1°16'	1°10'	1°23'	1°	1°20'	1°8'	1°24'	0	1°48'
Δ SR. i ..	0,783	0,888	0,756	0,69	0,874	0,615	0,844	0,566	0,869	0,087	1,112
I i.....	608	601	595	594	640	615	635	500	620	?	612
Δ α e.....	5°	5°40'	6°43'	3°46'	4°36'	2°36'	3°32'	6°	7°6'	1°51'	7°59'
Δ SR. e ...	1,730	1,202	1,306	0,767	0,940	0,595	0,830	1,168	1,452	0,347	1,90
I e.....	347	213	194	203	188	230	233	194	204	187	238

Les indices de réduction enzymolytique observés sous l'action de l'émulsine (le) sont tous voisins de 200. Ils sont nettement inférieurs à celui du salicoside (321) qui existe dans cette écorce. Comme nous le verrons, ceci tient, pour la plus grande part, à la présence d'autres glucides hydrolysables par l'émulsine (salipurposide) dont l'indice de réduction (le) est très faible (145) et aussi à la présence du populoside.

Nous avons observé au cours des essais biochimiques la formation d'un *précipité très important* après l'addition d'émulsine : l'action de l'émulsine est très lente dans tous les essais car le ferment est englué dans le précipité formé et il agit sur des glucides fort peu solubles dans l'eau (salipurposide). Il est nécessaire de procéder à trois ou quatre additions de ferment pour obtenir une hydrolyse totale (durée moyenne 45 jours). Néanmoins, il faut noter ce fait curieux, que les indices de réduction (le) partiels observés au cours de l'hydrolyse soient tous identiques ; ce qui pourrait amener à penser à la présence d'un seul glucide hydrolysable par l'émulsine : il n'en est rien. Si nous examinons le précipité formé dans l'essai biochimique, nous constatons qu'il contient, à côté du salipurposide formé par l'hydrolyse du salipurposide, du tanin et du populoside ; comme dans le cas des *Salix incana* et *pentandra* ou des *Populus*, la présence du populoside peut contribuer à abaisser l'indice de réduction (le), mais cette influence doit être ici de peu d'importance.

3° Les 2 essais suivants correspondent à une période de végétation un peu plus avancée. Les châtons sont épanouis mais les feuilles n'ont pas encore fait leur apparition. La quantité de saccharose est, là encore, un peu plus faible dans les rameaux ♂ que dans les rameaux ♀. Il en est de même des glucides hydrolysables par l'émulsine qui donnent lieu à des remarques identiques.

4° Les rameaux du 5 mai, en pleine végétation, sont cueillis dans la même station que les précédents ; ils ne renferment plus de saccharose ; l'invertine ne provoque qu'une faible apparition de sucre réducteur ; la teneur en glucides hydrolysables par l'émulsine a baissé de 76 p. 100 ; l'indice de réduction enzymolytique est voisin des précédents. Quelques essais qui ne figurent pas dans le tableau nous ont montré que le bois ne renferme que fort peu de glucides hydrolysables par les ferments.

5° Le dernier essai biochimique a trait à la partie interne des grosses écorces sèches ; les écorces, cueillies en août, sont divisées en 2 portions, avec un couteau, d'un côté le parenchyme

cortical, de l'autre, le liber coloré en jaune à sa face interne. Cette portion est séchée rapidement au soleil et traitée un mois après. L'extrait obtenu est dissous dans l'eau chaude ; la solution trouble est épuisée à l'éther et mise au frais pendant un mois : il se forme des cristaux blancs (salipurposide) et jaune or (iso-salipurposide) que l'on recueille (9 g.,80 pour 100 g.) ; ils seront étudiés plus loin. La solution aqueuse, privée des cristaux, est alors soumise à l'essai biochimique ordinaire.

Elle renferme une quantité importante de saccharose (1 g.,05 p. 100 g. sec). La teneur en glucides hydrolysables par l'émulsine est également considérable : l'indice est de 238 nettement plus élevé que dans les essais précédents ; ceci tient à ce que nous avons privé le liquide de la plus grande partie du salipurposide et de l'isosalipurposide qui possèdent un indice de réduction enzymolytique très faible (voisin de 150). Cependant, l'indice est trop différent de l'indice théorique pour que nous puissions évaluer la teneur de ces organes en salicoside. Enfin, signalons que cette écorce ne fournit pas la réaction du benzoate d'éthyle.

ESSAI D'EXTRACTION. — *Essai n° 1 :*

Le liquide aqueux correspondant à 200 g. de très jeunes rameaux est déféqué par 25 g. de magnésie anhydre. L'extrait obtenu est entièrement cristallisé ; il suffit de le reprendre par l'alcool à 95° pour obtenir 4 g.,10 de cristaux de salicoside presque pur. Après purification, j'ai pu retirer de cet essai 3 g. de *salicoside* pur, que j'ai identifié par ses constantes physiques ($P. F. = + 201^{\circ}$ [α]_D = $- 63^{\circ},20$).

Essai n° 2. — Les jeunes rameaux n'ont pas fourni de cristaux de salipurposide. Traités comme ci-dessus, j'ai pu isoler facilement le *salicoside*.

Ecorces. — Après avoir privé la solution aqueuse du salipurposide qu'elle contient, il est facile d'en retirer le salicoside.

Nous l'avons obtenu sans défécation. Pour cela les solutions aqueuses correspondant à 1 kg. d'écorce sèche sont évaporées à sec dans le vide. L'extrait pèse 110 g. Il est repris à 3 reprises par 250 cm³ d'acétone bouillant. Les 3 liqueurs, après repos, sont distillées à sec ; l'extrait obtenu est alors repris 2 fois par 250 cm³ d'ester acétique hydraté à l'ébullition. Après repos et décantation, on obtient 2 g.,10 de cristaux de salicoside brut qu'il est facile d'amener à l'état pur par une cristallisation dans l'alcool à 95°.

Cette méthode est intéressante car elle ne fait pas intervenir de défécation ; cependant le rendement en produit pur est très faible puisque, dans l'essai ci-dessus, la quantité théorique de salicoside est voisine de 15 g.. Les eaux-mères permettent d'obtenir facilement 6 g. de salicoside pur après défécation magnésienne.

Portion libérienne des écorces âgées. — Après avoir séparé du liquide d'extraction le salipurposide et l'isosalipurposide ainsi que nous l'avons vu dans l'étude biochimique, il est facile de caractériser le salicoside dans cette partie de l'écorce.

Nous avons opéré sur un liquide correspondant à 28 g. d'écorce sèche. Après défécation magnésienne, l'extrait obtenu est repris par 20 cm³ d'alcool absolu ; il se forme 0 g.,25 de cristaux légèrement impurs ; dissous dans l'alcool à 95° à l'ébullition, il fournissent par refroidissement du *salicoside* pur (P. F. + 202° ; $[\alpha]_D = -63^{\circ}36$; P. F. de l'aglycone = + 84°).

La méthode magnésienne permet d'opérer l'extraction de certains hétérosides sur une très petite quantité d'organes (25 g. dans l'exemple ci-dessus).

En résumé, l'étude biochimique des rameaux de *Salix Purpurea* nous montre que le saccharose est présent dans presque tous les cas. Les très jeunes tiges ne renferment que du salicoside et du populoside, alors que les rameaux plus âgés contiennent un mélange glucidique très complexe (salicoside, populoside, salipurposide, isosalipurposide). Les rameaux jeunes paraissent renfermer plus de populoside que les écorces âgées. Enfin la composition chimique des rameaux mâles et femelles est très voisine.

LE SALIPURPOSIDE (1).

L'indice de réduction enzymolytique observé sous l'action de l'émulsine, au cours de l'essai biochimique, nous montre qu'il existe, à côté du salicoside, un autre glucide hydrolysable par ce ferment et d'indice plus faible. Nous l'avons obtenu de la façon suivante :

C. CHARAUX et J. RABATÉ. — Contribution à l'étude biochimique du genre *Salix*. III. Un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine retiré de l'écorce de *Salix purpurea* L. ; le salipurposide (*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1931, **13**, 588). IV. Constitution chimique du salipurposide (*Ibid.*, 1931, **13**, 814).

PRÉPARATION. — L'écorce employée est récoltée en février à Jouet-sur-l'Aubois sur des arbustes femelles dont les tiges ont de 3 à 4 centimètres de diamètre. L'écorce détachée, séchée et pulvérisée (tamis 15) est épuisée par l'alcool à 90° bouillant. L'extrait alcoolique, obtenu par évaporation à sec des liqueurs d'épuisement, est repris par un poids d'eau bouillante égal à celui de l'écorce traitée. La solution trouble et infiltrable est agitée encore tiède avec 2 fois son volume d'éther. Après 24 heures de repos dans un endroit frais, on peut séparer par décantation la couche aqueuse, tenant en suspension le glucoside cristallisé, de la couche éthérée qui surnage. Le rendement en hétéroside brut est de 4 p. 100 de l'écorce sèche.

PURIFICATION. — Le dépôt brut est souillé de matières tanniques contenues dans l'écorce. On le purifie en le faisant cristalliser, d'abord dans 40 parties d'eau bouillante, puis dans 10 parties d'alcool à 60° et finalement dans 50 parties d'eau bouillante. Dans toutes ces opérations, il faut avoir bien soin de ne laisser bouillir les solutions que le moins de temps possible ; une ébullition prolongée altère très rapidement l'hétéroside. La purification dans l'alcool à 60° diminue beaucoup le rendement, mais elle est nécessaire pour obtenir un produit tout à fait pur.

Le rendement en hétéroside pur est de 1 g.,80 p. 100.

Le produit obtenu est le salipurposide.

LEROUX [l. c. p. 11] ne pouvait pas obtenir cet hétéroside, car la méthode qu'il emploie le détruit. En effet, pour épuiser l'écorce, il la fait bouillir pendant 4 heures avec une solution alcalinisée par le carbonate de potassium. Le salipurposide est altéré par l'ébullition et les liquides alcalins le colorent en jaune orange. De plus le salipurposide est précipité par l'extrait de Saturne.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — C'est un corps blanc crème en longues aiguilles soyeuses réunies en faisceau. Il n'a pas de saveur bien nette. Cependant la solution alcoolique est nettement amère. Son odeur est nulle.

Il est très soluble dans l'alcool fort. Les solutions sont légèrement jaunes. Il est presque insoluble dans l'eau froide. Il est soluble dans l'ester acétique hydraté et dans l'acétone. Porté à l'étuve à + 102°, pendant 3 heures, il perd environ 7.20 p. 100 de son poids (eau de cristallisation). A une température plus élevée, 115-120°, il perd de nouveau du poids en se colorant en jaune ; mais cette perte est due à une altération du produit par un commencement de décomposition qui a pu aussi se produire pendant la première dessiccation à + 102° + 103°.

Séché à l'étuve de BOUILLOT [l. c. p. 57] à $+ 70^{\circ}$, il perd seulement en 6 heures, dans le vide, 5.69 p. 100 d'eau qu'il reprend en moins d'un jour à la température ordinaire.

Le point de fusion au tube est peu net, car le produit s'altère au-dessus de 100° .

Au bloc MAQUENNE, il jaunit vers $+ 150^{\circ}$. La masse jaune fond ensuite vers $+ 190^{\circ}$. La fusion totale instantanée a lieu à $+ 227^{\circ}$. La mesure du pouvoir rotatoire n'a pu être faite en solution aqueuse, étant donnée la trop faible solubilité de l'hétéroside dans ce solvant. Nous l'avons effectuée en solution dans l'alcool à 95° à la température de $+ 20^{\circ}$.

Le pouvoir rotatoire du produit hydraté à 4.85 p. 100 d'eau est de :

$$\alpha_D = -109^{\circ},72 \text{ (} p = 0,1519 \text{ ; } v = 50 \text{ ; } l = 4 \text{ ; } \alpha = -1^{\circ}20' \text{)}$$

qui donne pour le produit anhydre

$$\alpha_D = -116^{\circ},87$$

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Chauffé sur une lame de platine, le salipurposide fond, charbonne et brûle sans laisser de résidu. La recherche de l'azote est négative. Il présente quelques réactions colorées intéressantes. Traité par les alcalis caustiques, soude et potasse, chaux, ou même par le carbonate de potasse, le salipurposide donne naissance à une belle coloration jaune orange. Le corps ainsi formé est insoluble dans l'éther. Par acidulation, la coloration disparaît pour reparaitre après addition d'alcali. L'acide sulfurique concentré le colore également en jaune, mais la coloration obtenue est ici beaucoup moins intense.

Les solutions de salipurposide dans l'alcool froid ou dans l'eau bouillante, ne précipitent pas par l'acétate de plomb, mais elles donnent un abondant précipité blanc par le sous-acétate de plomb.

Le perchlorure de fer en solution diluée donne, avec une solution alcoolique de salipurposide, une coloration brunâtre peu accentuée.

Le salipurposide n'est pas réducteur. Cependant, si on fait bouillir la solution aqueuse pendant quelques minutes, le glucoside devient réducteur. Nous avons vu qu'il est très facilement altéré sous l'action de la chaleur. Cette altération libère des produits réduisant la liqueur de FEHLING.

Le salipurposide est hydrolysé lentement par l'émulsine, car il est très peu soluble dans l'eau froide. L'hydrolyse sulfurique

est beaucoup plus sûre ; elle permet de peser le produit non glucidique de dédoublement.

HYDROLYSE SULFURIQUE. — 0 g.,2014 de salipurposide, hydraté à 4.85 p. 100, sont placés dans un ballon avec 20 cm³ de solution d'acide sulfurique à 3 p. 100. Le ballon est chauffé au bain de chlorure de calcium avec un réfrigérant à reflux, pendant 2 heures. Le glucoside se dissout à l'ébullition puis on voit apparaître le produit de dédoublement non glucidique qui cristallise en fines aiguilles presque insolubles dans le liquide bouillant. On laisse refroidir le ballon et son contenu. Après un jour de repos, le produit non glucidique est recueilli sur un creuset de Gooch taré. Il est lavé avec 30 cm³ d'eau glacée.

Le creuset est séché, dans le vide sulfurique d'abord, puis à l'étuve à 100° pendant une heure. Le produit non glucidique reste inaltéré à cette température.

On trouve ainsi que 100 g. de salipurposide anhydre, fournissent 62 g.,44 de produit non glucidique de dédoublement. Nous proposons de nommer ce produit *salipurpol*.

Les eaux de lavage du salipurpol nous servent à doser le sucre formé par l'hydrolyse au moyen de la méthode M. G. BERTRAND ; 0.2014 de glucoside ont fourni 0 g.,08148 de sucre réducteur exprimé en glucose. La déviation de la solution est prise au tube de 4 dm. Le pouvoir rotatoire du sucre est de :

$$\alpha_D = + 51.13 \text{ (p = 0 g.,08148 ; v = 50 ; l = 4 ; } \alpha = + 20')$$

Le sucre formé est probablement du glucose. 100 g. de salipurposide anhydre en fournissent 42.5.

La solution sulfurique restant après le dosage du sucre réducteur est neutralisée par le carbonate de calcium ; le précipité de sulfate de calcium formé est essoré et lavé avec un peu d'eau. Les liqueurs limpides sont évaporées à sec dans le vide ; par refroidissement, on obtient des cristaux que l'on recueille. Ils présentent un pouvoir rotatoire de :

$$\alpha_D = + 51.98 \text{ (p = 0 g.,0202 ; v = 6 ; l = 2 ; } \alpha = + 21')$$

Le sucre formé par hydrolyse sulfurique est bien du glucose ; en effet, nous avons dosé le sucre réducteur dans la solution préparée ci-dessus ; nous avons obtenu la quantité théorique de sucre réducteur correspondant au glucose.

LE SALIPURPOL.

Les cristaux recueillis sur le creuset de Gooch lors de l'hydrolyse sulfurique sont dissous dans l'éther. L'éther en s'évaporant, abandonne des cristaux. C'est le salipurpol.

C'est un corps blanc cristallisé en fines aiguilles, sans odeur, ni saveur. Il est très peu soluble dans l'eau froide. Il est un peu soluble à l'ébullition dans ce solvant ; il est très soluble dans l'alcool, l'éther et l'acétone. Il cristallise facilement dans l'acide acétique au 1/2. Il ne possède pas d'action sur la lumière polarisée. Il cristallise anhydre. Il se sublime lentement sans s'altérer vers 200°. Il fond nettement à + 256°. Il est soluble dans la soude en donnant une coloration jaune moins intense que le salipurposide. Cette solution alcaline ne cède plus rien à l'éther. Par acidulation, la coloration jaune disparaît et il se forme un trouble laiteux. Agitée à l'éther, la solution redevient limpide et l'éther s'empare du salipurpol libéré de sa combinaison sodique par acidulation.

Une solution alcoolique de salipurpol additionnée d'une solution de perchlorure de fer très diluée, donne une coloration rouge violacé très intense. La nature phénolique du salipurpol ne fait donc pas de doute.

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE DU SALIPURPOSIDE.

Elle est effectuée sur le corps hydraté à 5.58 p. 100 d'eau. On a déduit des pesées l'eau d'hydratation.

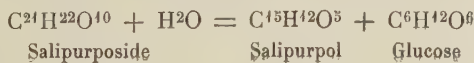
Poids du corps : 0,1779	{	H ² O.... = 0,0820 ;	CO ² = 0,3787
		H p. 100 = 4,17 ;	C p. 100 = 58,05
Poids du corps : 0,1390	{	H ² O.... = 0,0674 ;	CO ² = 0,2856
		H p. 100 = 5,38 ;	C p. 100 = 57,84

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE DU SALIPURPOL.

Elle est effectuée sur le produit anhydre :

Poids du corps : 0,2054	{	H ² O.... = 0,0843 ;	CO ² = 0,4943
		H p. 100 = 4,56 ;	C p. 100 = 65,63

En se basant sur ces analyses et sur l'hydrolyse sulfurique, nous proposons l'équation d'hydrolyse suivante :



Le salipurposide cristallise avec 1.5 H²O. En effet, par dessiccation du produit stable à l'air, nous avons trouvé 5.69 p. 100 d'eau.

La théorie pour 1,5 H²O est de 5.85 p. 100.

	Trouvé	Théorie pour C ²¹ H ²² O ¹⁰
C p. 100.....	57,94	58,06
H p. 100.....	5,27	5,07
Glucose p. 100 formé par hydrolyse.....	42,5	41,4
Produit non glucidique p. 100 formé par hydrolyse.....	62,44	62,67
		Théorie pour C ¹⁵ H ¹² O ⁵
C p. 100.....	65,63	66,17
H p. 100.....	4,56	4,41

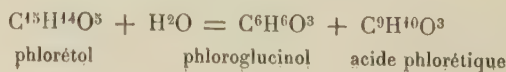
On a trouvé dans l'hydrolyse sulfurique un peu plus de sucre réducteur et un peu moins de produit non glucidique. En effet, le salipurpol n'est pas tout à fait insoluble dans l'eau et il est réducteur grâce à ses fonctions phénoliques libres.

L'indice de réduction enzymolytique théorique est de + 149.

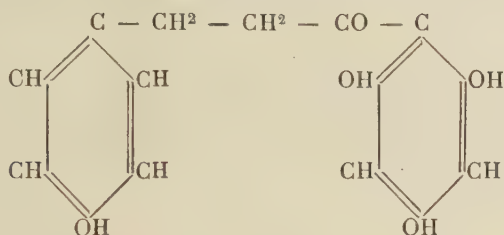
Les analyses que nous avons effectuées permettent d'assigner au salipurposide la formule C²¹H²²O¹⁰ et au salipurpol la formule C¹⁵H¹²O⁵.

Il existe un rapport très étroit entre ces formules et celles du phloridzozide, C²¹H²⁴O¹⁰ et de son produit de dédoublement le phlorétol, C¹⁵H¹⁴O⁵. Le phloridzozide et le phlorétol renferment 2 atomes d'hydrogène de plus que le salipurposide et que le salipurpol.

La constitution du phlorétol est bien connue ; sous l'action de la potasse ou de la baryte à chaud, il fournit un composé phénolique, le phloroglucinol, et un acide phénol, l'acide phlorétique qui n'est autre que de l'acide p-hydrocoumarique. L'équation de cette hydrolyse est la suivante :



La constitution du phlorétol découle de cette équation :



Nous avons voulu voir si le salipurpol était décomposé par les alcalis de la même manière que le phlorétol et si on retrouve dans l'un des produits d'hydrolyse la même différence de 2 atomes d'hydrogène que dans le salipurposide et le salipurpol.

Nous avons appliqué à l'étude du salipurpol les méthodes qui ont servi à déterminer la formule du phlorétol.

Nous sommes arrivés à isoler, par l'action des alcalis sur le salipurpol, du phloroglucinol et un acide phénol que nous avons identifié en toute certitude à l'acide p-coumarique.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Nous avons fait agir l'hydrate de baryte en solution aqueuse très concentrée sur le salipurpol suivant le mode opératoire indiqué par M. J. BOUGAULT (Thèse Doct. Sc., Paris 1908).

Salipurpol	1 g.
Hydrate de baryte	2 g.,4
Eau distillée	4 g. .

On chauffe en tube scellé à l'autoclave à $+ 115^{\circ} + 120^{\circ}$ pendant 4 heures ; au bout de ce temps, le mélange brun foncé obtenu est acidifié au moyen d'acide chlorhydrique au 1/10 ; puis agité à l'éther. Celui-ci s'empare de la plus grande partie des principes formés par la destruction alcaline. La solution aqueuse inférieure reste cependant colorée en brun par des produits de résinification. L'éther est évaporé à sec. Le résidu est repris par 20 cm³ d'eau distillée. On ajoute du carbonate de calcium et on fait bouillir. On filtre. Le liquide limpide encore tiède est agité à l'éther. La solution étherée est évaporée à sec. Le résidu est repris par l'eau chaude et filtré bouillant. La solution aqueuse ne nous a pas permis d'obtenir des cristaux purs.

La liqueur ainsi débarrassée des corps phénoliques est alors acidifiée par de l'acide chlorhydrique dilué ; il se forme un

trouble laiteux. Un épuisement à l'éther fait passer dans ce solvant les produits acides. L'éther, évaporé à sec, abandonne un résidu entièrement cristallisé. Celui-ci est repris par 20 cm³ d'eau distillée. On fait bouillir avec du noir animal et on filtre bouillant. La liqueur aqueuse abandonne de beaux cristaux que l'on recueille. Ils fondent à + 225° et sont identiques à ceux que nous avons obtenus dans la seconde expérience. Nous les étudierons par la suite.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. -- La destruction barytique ne nous a pas permis d'extraire, avec un rendement satisfaisant, le produit phénolique de dédoublement du salipurpol.

Nous avons alors fait bouillir 0 g.,40 de salipurpol pendant 2 heures et demie avec 3 g. de potasse et 10 cm³ d'eau distillée.

EXTRACTION DU PHLOROGLUCINOL. — La solution ainsi obtenue est neutralisée exactement, additionnée d'un très léger excès de bicarbonate de sodium et épuisée à l'éther. L'éther est évaporé à sec ; il abandonne un produit cristallisé que l'on reprend par un peu d'eau distillée chaude. On fait bouillir avec du noir animal et on filtre ; par refroidissement, il se dépose de fins cristaux ; on les recueille et on les fait sécher. Ils sont solubles dans l'eau et présentent une saveur sucrée.

Ils fondent au bloc MAQUENNE à + 222°. La solution aqueuse de ce produit colore en violet le perchlorure de fer dilué. Avec le réactif de LIEBERMANN, ces cristaux produisent une coloration rose. 0 g.,01 de produit est placé dans un tube à essai avec 2 cm³ de chloroforme, une goutte d'alcool et une pastille de potasse ; la pastille se colore en rose.

Traités par une solution aqueuse de nitrite de sodium et par une solution d'acétate d'aniline, ils donnent naissance à un dépôt rouge cinabre de benzène-azo-phloroglucinol.

Toutes ces réactions concordent avec celles que donne le phloroglucinol.

Le dédoublement du salipurpol par les alcalis donne naissance à du phloroglucinol comme le fait le phlorétol.

EXTRACTION ET IDENTIFICATION DE L'ACIDE P-COUMARIQUE. — La liqueur de destruction potassique, privée du phloroglucinol comme nous venons de le voir, est alors franchement acidifiée, puis, épuisée à l'éther. L'éther est évaporé à sec. Le résidu est repris par de l'eau distillée. On fait bouillir avec un peu de noir animal. On filtre à chaud. Par refroidissement, il se dépose de fins cristaux, en aiguilles légèrement grisâtres.

Une autre cristallisation dans l'eau fournit des cristaux parfaite-

ment blancs. Leur point de fusion est de $+ 226^{\circ}$. Ce produit est identique à celui que nous avons obtenu par destruction barytique du salipurpol.

Il possède une fonction acide libre puisqu'il fait effervescence avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Il possède également une fonction phénolique libre : il colore en rouge violacé intense le réactif de LIEBERMANN. Avec le perchlorure de fer, il donne naissance à une coloration brune, probablement due à la fonction acide.

Nous avons effectué sur ce produit un dosage acidimétrique ; 0 g.,1049 de produit sont dissous dans 10 cm³ d'alcool neutralisé, et on titre avec de la soude décimormale en présence de phénolphthaléine. Il faut verser 7 cm³ pour obtenir le virage qui manque de netteté. Le poids moléculaire de l'acide est voisin de 149. La fonction phénol entache ce résultat par défaut.

Nous avons ensuite effectué l'analyse élémentaire de ce produit :

Poids du corps 0 g.,1732 H²O = 0 g.,0805 H p. 100 = 5,16
CO² — 0 g.,4172 C p 100 = 65,32

La formule C⁹H⁸O³ correspond à ces analyses :

	Trouvé	Théorie pour C ⁹ H ⁸ O ³
Poids moléculaire	149	164
H p. 100	5,16	4,86
C p 100	65,32	65,85

Nous avons pensé que ce produit, d'après sa formule, pouvait être un des 3 acides coumariques isomères connus et nous l'avons identifié avec l'acide p-coumarique.

On sait que cet acide existe, combiné aux résinotannols, dans l'aloès du Cap. Dans ce but, afin de le comparer à l'acide dérivé du salipurpol, nous l'en avons retiré selon le procédé indiqué par M. J. BOUGAULT [l. c. p. 71].

Les cristaux obtenus (Rdt. 1 g. p. 100 g. d'aloès) fondent au bloc MAQUENNE à $+ 226^{\circ}$, en même temps que l'acide dérivant du salipurpol, et qu'un mélange des 2 produits. Un échantillon d'acide p-coumarique, retiré de l'aloès par M. BOUGAULT fond exactement à la même température.

D'ailleurs, nous avons transformé par l'amalgame de sodium l'acide p-coumarique obtenu à partir du salipurpol en acide p-hydrocoumarique. Nous avons, pour cela, suivi le procédé de M. BOUGAULT.

On obtient ainsi des cristaux d'acide p-hydrocoumarique fondant à $+ 129^{\circ}$.

Un échantillon d'acide p-hydrocoumarique, préparé à partir de l'acide p-coumarique de l'aloès, fond à la même température.

On sait que l'acide p-coumarique est identique à l'acide phlorétique préparé par l'action des alcalis sur le phlorétol. Le salipurpol donne naissance sous l'action de la potasse bouillante à du phloroglucinol et à de l'acide p-coumarique.

Le phlorétol traité de la même façon fournit du phloroglucinol et de l'acide p-hydrocoumarique.

Le salipurpol possède une constitution analogue à celle du phlorétol ; le radical p-hydrocoumarique de celui-ci est simplement remplacé par le radical p-coumarique.

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DU SALIPURPOSIDE. — Le phloridzoside produit chez les animaux une forte glycosurie. Etant donné la proche parenté chimique du salipurposide et du phloridzoside, nous avons pensé que le salipurposide pouvait posséder une action analogue sur l'organisme.

Les essais physiologiques ont été effectués par M. le Professeur RATHERY qui a eu la grande obligeance de nous communiquer les résultats suivants :

Le salipurposide, insoluble dans l'eau, est préalablement dissous dans une solution de carbonate de sodium.

On injecte le 24 juin, 1 g.,50 de salipurposide à un Chien pesant 9 kg.. Le dosage de sucre sanguin effectué avant l'expérience indique une teneur de 1 g.,03 de glucose par litre de sang ; 18 heures après l'injection, la glycémie est de 1 g.,41. L'urine, avant l'injection, ne renferme pas de sucre. 1 heure 30 après, l'urine contient 41 g.,5 de glucose par litre ; 3 heures après, 54 g.,2 ; après 18 heures, 25 g.,8. Le lendemain l'urine ne contient plus de sucre. Les urines renfermant du glucose possèdent une teinte rouge très prononcée.

Le 2 juillet le même Chien reçoit de nouveau une dose de 1 g.,50 de salipurposide ; 1 heure 30 après l'injection, l'urine renferme 23 g.,6 de sucre. La glycémie est de 1 g.,23 et la glycosurie de 35 g.,9 après 2 heures 30. 20 heures après, la glycémie est redevenue normale (1 g.,03) mais l'urine renferme encore 3 g.,58 de sucre ; ce n'est que 30 heures après l'injection que la réaction du glucose devient négative dans l'urine.

Un Chien différent pesant 14 kg., reçoit le 30 juin une injection de 1 g.,50 de salipurposide. La glycémie, qui est de 1 g.,15 avant l'injection passe à 1 g.,23 après 1 h. 30 ; 3 heures après, elle est de 1 g.,57. La glycosurie, nulle avant l'injection, est de 5 g.,02 après 3 heures et

de 5 g.,72 après 17 heures. 21 heures après l'injection, l'urine ne renferme plus de glucose.

Ces expériences montrent que le salipurposide possède, comme le phloridzoside, un pouvoir glycosurique très marqué. Le taux du sucre sanguin s'élève notablement (environ 1/3 de sa valeur initiale). La maximum a lieu 3 heures après l'injection. La glycémie redevient normale 24 heures après l'injection.

La glycosurie peut être considérable ; dans la première expérience, elle est de 54 g.,2 par litre d'urine au bout de 3 heures, puis le taux du glucose baisse rapidement pour s'annuler après 24 heures.

Ces résultats permettent de rapprocher le salipurposide du phloridzoside ; c'est une raison de plus pour leur accorder une constitution chimique voisine.

CONCLUSIONS. -- Le salipurpol, chauffé avec des alcalis concentrés, baryte ou mieux potasse, se dédouble en une molécule de phloroglucinol et une molécule d'acide p-coumarique. Le phlorétol se dédouble, dans les mêmes conditions, en phloroglucinol et en acide p-hydrocoumarique.

Comme le phloridzoside, le salipurposide possède un pouvoir glycosurique très prononcé.

Ces raisons nous ont conduit à donner au salipurposide une formule analogue à celle du phloridzoside. Le salipurposide serait du déhydrophloridzoside.

L'ISOSALIPURPOSIDE (1).

Le salipurposide retiré des écorces de *Salix purpurea* est incolore et nous avons remarqué que la face libérienne interne est fortement colorée en jaune dans les écorces assez âgées. Cette couche jaune n'est d'ailleurs épaisse que de quelques dixièmes de mm. De même, à l'insertion des jeunes rameaux sur les troncs, on constate la présence d'un bourrelet dont la zone libérienne est fortement colorée en jaune d'or.

Comme nous avons pu nous en rendre compte par la suite, cette coloration est produite par un hétéroside jaune que nous avons isolé à l'état pur et que nous avons nommé isosalipurposide en raison de ses propriétés.

(1) C. CHARAUX et J. RABATÉ. — Contribution à l'étude biochimique du genre *Salix*. V. Sur l'isosalipurposide. *C. R. Ac, Sc.*, 1933, **196**, 816,

CHOIX DU MATÉRIEL D'ÉTUDE. — Nous nous sommes adressés d'abord à la portion interne de l'écorce âgée de *S. purpurea*. Elle est détachée au couteau ; l'opération est pénible et la quantité d'écorce ainsi enrichie en produit jaune est très faible.

Le traitement des bourrelets annulaires est déjà beaucoup plus facile ; mais on peut enrichir artificiellement l'écorce de la façon suivante.

Au printemps, on effectue sur les rameaux âgés de quelques années une décortication large de 1/2 mm. intéressant la seule portion libérienne de l'écorce. L'afflux de la sève élaborée contribue à accumuler dans le cul de sac ainsi formé de grandes quantités de produits : un bourrelet se forme : on le recueille en automne. On enlève la partie externe du bourrelet et on ne conserve que la partie interne jaune d'or qui est séchée. Nous avons pu obtenir 150 g. d'écorce sèche (A). De même si l'on coupe une tige âgée de *S. Purpurea*, il se forme un grand nombre de jeunes tiges tout autour de la blessure. Les bourrelets d'insertion renferment également une assez forte quantité de produit jaune qui semble produit par la stase libérienne. La méthode la plus rapide pour se procurer un matériel abondant consiste à s'adresser à des arbres très vieux. Nous avons pu rencontrer dans l'Île Charlemagne à Orléans quelques spécimens très âgés. Les troncs sont enfouis dans les ronces ; l'écorce en est très épaisse et la zone riche en produit jaune est relativement importante. Elle est séparée au couteau. Nous avons pu obtenir ainsi une écorce B qui est séchée et pulvérisée ; elle pèse sèche 200 g. ; sa coloration est jaune d'or.

PRÉPARATION. — Les matériaux bien secs sont pulvérisés finement. Le procédé d'extraction est ensuite identique pour toutes les poudres, seuls les rendements varient.

Décrivons l'extraction dans le cas de la poudre A.

50 g. de poudre sont placés dans une allonge de Soxhlet et sont épuisés par 200 cm³ d'éther ordinaire saturé d'eau. La marche de la lixiviation est parfaite et on arrête l'épuisement au bout de 4 heures. On abandonne le tout pendant 12 heures ; il se forme un enduit cristallin jaune. L'éther surnageant est décanté ; il abandonne un dépôt cristallisé qui est formé de produit jaune presque pur.

Les cristaux sont alors dissous dans l'eau bouillante. La solution, filtrée, cristallise. Les cristaux examinés au microscope, se montrent formés ;

a) surtout de *larges cristaux tabulaires jaunes* : c'est l'isosalipurposide ;

b) de *très fines aiguilles incolores groupées souvent en amas*, c'est le salipurposide.

Pour séparer ces deux corps, nous nous sommes basés sur les faits suivants :

1° Quoique plus soluble dans l'eau que le salipurposide, l'isosalipurposide cristallise le premier d'une solution aqueuse.

2° Le salipurposide est très peu soluble dans l'alcool absolu froid ; l'isosalipurposide y est très soluble.

3° Le salipurposide est presque insoluble dans l'acétone anhydre froid ; l'isosalipurposide y est très soluble.

Les enrichissements des cristaux sont suivis au moyen du point de fusion et surtout par l'examen polarimétrique ou l'examen microscopique des cristaux.

On arrive ainsi à obtenir deux produits : des cristaux blancs en aiguilles fines dont le point de fusion est de $+ 227^{\circ}$ et de pouvoir rotatoire $\alpha_D = - 105^{\circ}$; des cristaux jaune d'or en larges tables prismatiques fondant à $+ 175^{\circ}$ et ayant un pouvoir rotatoire voisin de $- 19^{\circ}$: c'est l'isosalipurposide.

Nous nous sommes attachés à effectuer l'extraction à une température aussi basse que possible pour éviter les risques d'isomérisation du salipurposide en isosalipurposide. On peut réaliser l'extraction et la purification à une température inférieure à $+ 50^{\circ}$. Le salipurposide peut d'ailleurs subir plusieurs cristallisations dans l'eau bouillante sans aucune altération.

Le rendement en isosalipurposide pur est voisin de 2 g. p. 100 g. d'écorce A ou B.

PROPRIÉTÉS DE L'ISOSALIPURPOSIDE. — Il forme des cristaux jaunes, sans odeur ni saveur, presque insolubles dans l'eau froide, très solubles dans l'eau chaude qui l'abandonne par refroidissement en belles paillettes cristallines ; très solubles dans l'alcool absolu et l'acétone anhydre, même à froid ; très légèrement solubles dans l'éther saturé d'eau qu'ils colorent en jaune. Desséché dans le vide de l'étuve de BOUILLOT à $+ 60^{\circ}$, il perd 6,5 p. 100 d'eau sans s'effleurir. Le point de fusion est de $+ 175^{\circ}$ (hydraté). Le pouvoir rotatoire du produit hydraté en solution dans l'alcool à 95° est de :

$$\alpha_D = - 19^{\circ}01 \text{ (p} = 0,0789 \text{ ; v} = 10 \text{ ; l} = 2 \text{ ; d} = - 18')$$

ce qui fait pour le produit anhydre : $\alpha_D = - 20^{\circ}4'$.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Ce corps ne renferme pas d'azote et brûle sans résidu. La soude diluée le dissout en donnant une coloration rouge orange ; par acidification, l'isosalipurposide cristallise inaltéré. Les solutions diluées de carbonate de sodium fournissent les mêmes réactions. L'acide chlorhydrique concentré le dissout en se colorant en rouge brique intense. Cette réaction permet de caractériser l'isosalipurposide sur le végétal, le salipurposide ne donnant pas de coloration dans ces conditions ; cette réaction montre que seules les parties du végétal colorées en jaune se colorent en rouge vif sous l'action de ClH concentré : l'isosalipurposide existe dans le liber mais non dans le parenchyme cortical.

L'isosalipurposide est hydrolysable par l'acide sulfurique dilué et par l'émulsine des amandes.

HYDROLYSE SULFURIQUE. — 0 g.,153 de produit hydraté à 6,5 p. 100 d'eau est chauffé avec 20 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100 au réfrigérant à reflux. Le produit se dissout en colorant la solution en jaune intense : la solution se décolore ensuite et au bout de 3 h. le ballon est mis à refroidir pendant 12 h. Il se forme de longues aiguilles cristallines incolores, que l'on recueille sur un creuset de Gooch taré et que l'on lave. Elles forment 62,27 p. 100 de l'hétéroside anhydre.

Les eaux-mères renferment du sucre réducteur qui forme 41,42 p. 100 de l'hétéroside anhydre. Le pouvoir rotatoire du sucre réducteur formé par l'hydrolyse est voisin de $\alpha_D = + 50^{\circ},61$. Il fournit une osazone caractéristique fondant à $+ 228^{\circ}$. C'est du *glucose*. L'hydrolyse peut être effectuée beaucoup plus rapidement car une ébullition de 6 minutes avec SO^+H^2 à 1 p. 100 conduit à une hydrolyse presque totale.

Le produit non glucidique de dédoublement fond à $+ 256^{\circ}$ en même temps que le salipurpol et qu'un mélange des deux produits.

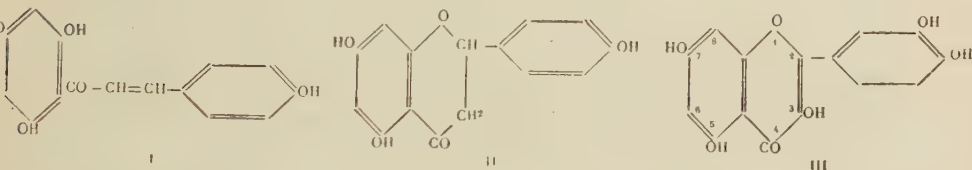
HYDROLYSE PAR L'ÉMULSINE. — Nous avons effectué cette hydrolyse suivant le mode opératoire préconisé par M. BRIDEL [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, 12, 921], pour les hétérosides peu solubles dans l'eau. Au bout de 3 mois, on peut constater que 42 p. 100 de l'isosalipurposide sort hydrolysé : j'ai pu retirer le *glucose* du liquide d'hydrolyse et le *salipurpol* à l'état pur.

L'hétéroside jaune du *Salix purpurea* fournit, tout comme le salipurposide, du glucose et du salipurpol et dans les mêmes

proportions. Nous l'avons appelé isosalipurposide. Le tableau suivant résume les propriétés des deux produits :

	Salipurposide	Isosalipurposide
Forme cristalline :	aiguilles fines	Tables prismatiques
couleur	incolore	jaune d'or
P.F.	+ 227°	+ 175°
α .D.	— 105°	— 19°
Solubilités : Eau froide	insoluble	insoluble
alcoool froid	peu soluble	très soluble
acétone froid	insoluble	très soluble
Eau de cristallisation :	5,69	6,5 p. 100
Par hydrolyse sulfurique :		
glucose p. 100	41,7	41,42
salipurpol p. 100	62,67	62,27

Comment expliquer cette isomérisie ? Nous avons donné au salipurpol la formule (I) :



Nous pensons que le salipurpol existe, dans l'isosalipurposide, sous la forme tautomère (II) qui nous fait immédiatement penser au groupe des flavonols, comme le quercétol (III) : l'isosalipurposide serait un *flavonoside*. Au cours de l'hydrolyse sulfurique, il y aurait ouverture de la chaîne du produit II avec formation du salipurpol, forme stable.

L'isosalipurposide se rapproche beaucoup des flavonosides par la couleur d'un jaune intense de ses cristaux ; la place du glucose doit cependant être différente ; en général l'ose est fixé sur l'oxyhydrile (3) dans les flavonosides ; dans le cas de l'isosalipurposide cette réunion ne peut être envisagée.

Nous avons tenté de nombreuses expériences en vue d'isomériser le salipurposide en isosalipurposide ou réciproquement : l'action de la chaleur colore le salipurposide en jaune pâle, mais il ne s'est pas formé d'isosalipurposide en quantités suffisantes pour le caractériser. L'action des acides à froid ne nous a pas fourni de résultats intéressants : peut-être l'acétylation ou la méthylation des hétérosides permettant de bloquer toutes les fonctions libres de la molécule des 2 hétérosides, pourrait-elle

fournir, après hydrolyse des dérivés acétylés obtenus, des produits faciles à comparer : la place de la liaison glucidique serait du même coup élucidée. Nous avons pensé à cette réaction, mais nous n'avons pu la mettre en œuvre étant donné la quantité relativement importante d'hétéroside dont il nous aurait fallu disposer.

L'isosalipurpol doit être très peu stable : l'hydrolyse par l'émulsine donne naissance au salipurpol et non à l'isosalipurpol, et ce mode d'hydrolyse est très doux : l'isosalipurpol ne paraît stable qu'à l'état d'hétéroside.

ETUDE PHYSIOLOGIQUE. — Elle est effectuée dans les mêmes conditions que pour le salipurposide, sous la direction de notre ami de TRAVERS, que nous sommes heureux de remercier ici. La glycémie n'accuse pas d'élévation sensible, mais la glycosurie est importante. Dans un cas, la glycosurie, nulle avant l'expérience s'élève à 30 g.,8 par litre au bout de trois heures. Après 24 heures, elle n'est plus que de 10 g.,3. La déviation polarimétrique de l'urine déféquée au sous-acétate de plomb correspond bien à la quantité de glucose dosée par la méthode de M. G. BERTRAND.

Les urines possèdent une coloration jaune intense : je n'ai pu y caractériser, cependant, l'isosalipurposide.

CONCLUSIONS. — La portion interne de l'écorce des rameaux âgés de *Salix purpurea* est recouverte d'une pellicule jaune d'or ; celle-ci est colorée par un hétéroside, l'isosalipurposide que nous avons pu extraire à l'état pur en partant d'un matériel enrichi en ce principe par divers procédés.

L'isosalipurposide forme des cristaux jaunes d'or que tous les caractères physiques différencient nettement du salipurposide. L'hydrolyse par les acides dilués fournit une molécule de glucose et une molécule de salipurpol ; nous pensons que l'isosalipurposide possède une formule flavanonique analogue à la formule pyronique des flavonosides.

RAPPORTS DU SALIPURPOSIDE AVEC LE NARINGOSIDE ET L'ISOHESPÉRIDOSIDE.

Nous avons montré que le salipurpol, produit de dédoublement du salipurposide, se décompose, par fusion alcaline, en phloroglucinol et en acide paracoumarique. Le naringétol (naringénine), produit de dédoublement du naringoside (naringine)

se dédouble de la même façon. Pour prouver l'identité du naringétole (P. F. = 245°) et du salipurpol (P. F. = 257°) nous avons extrait le naringoside, ce qui nous a permis de préciser quelques propriétés de cet hétéroside.

EXTRACTION DU NARINGOSIDE. — Le naringoside a été retiré des fleurs de Pamplemoussier, *Citrus decumana* L., par DE VRY (*Jahresber. f. Pharm.*, 1866, 5, 134). M. CERIGHELLI a pu nous procurer 400 g. de fleurs sèches de *Citrus decumana* : nous l'en remercions vivement.

Les fleurs sèches sont épuisées à l'alcool à 85°. Après distillation de l'alcool au bain-marie, la solution aqueuse est épuisée par l'éther rapidement, puis, placée dans un endroit frais. Il se forme des cristaux blancs qui sont purifiés par une cristallisation dans l'alcool à 50°, puis dans l'eau. Rendement 1 g.,9 p. 100 de fleurs sèches.

Il est plus commode d'extraire le naringoside des écorces du fruit par un procédé identique. On peut obtenir ainsi 5 g. de produit brut pour 100 g. d'écorces sèches : l'albedo renferme la presque totalité de l'hétéroside.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Les constantes physiques suivantes identifient le produit obtenu au naringoside.

Aiguilles blanches, sans odeur, de saveur amère. Très solubles dans l'eau bouillante ; presque insolubles à froid. Teneur en eau ; 4,89 p. 100. $\alpha_D^{20} = -85^{\circ},32$ (dans l'alcool à 60°) pour le produit hydraté soit $\alpha_D^{20} = -89^{\circ},66$ pour le produit anhydre.

Point de fusion instantané : $= +183^{\circ}$.

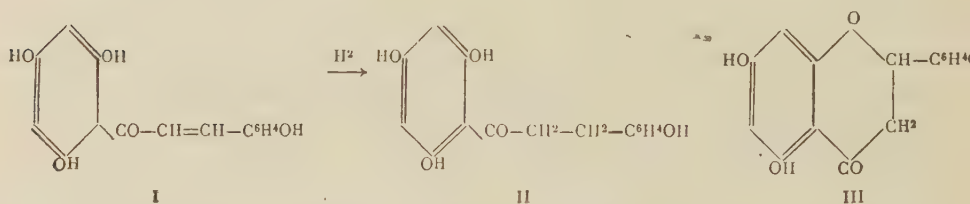
PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Hydrolysé par chauffage de deux heures avec SO^+H^2 à 3 p. 100 dans des conditions identiques au salipurposide (v. p. 68), il fournit (p. 100 de produit anhydre) 57,69 d'un mélange d'oses (glucose + rhamnose) ayant un pouvoir rotatoire de ($\alpha_D = +31^{\circ},9$) et 46,72 d'un produit phénolique très peu soluble dans l'eau et fondant en même temps que le salipurpol et qu'un mélange des deux produits. (Théorie pour le naringoside 59,31 et 46,89).

Le salipurpol est donc bien identique au naringétole. Le nom de salipurpol doit disparaître de la nomenclature.

HYDROLYSE PAR LA RHAMNODIASE. — Nous pensions pouvoir isoler facilement le biose existant dans la molécule du naringoside par hydrolyse à la rhammodiase. Ce ferment a déjà permis à M. CHARAUX [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, 6, 631 et 1926, 8, 915] d'isoler deux holosides, le rutinoside et robinoside.

Le naringoside est inattaqué par la rhammodiastase (même après deux ans d'action !) et je pense que, tout comme le bud-dléoflavonoloside (*l. c.* p. 19), ou l'orobanchoside, il renferme non un rhammoglucose, mais un glucorhammose, inattaquable par la rhammodiastase.

CONSTITUTION DU NARINGÉTOL. — FRANKS (*Centralbl.*, 1914, 2, 253) a hydrogéné le naringétol en phlorétol (II) suivant le schéma ci-dessous. FRANKS attribue au naringétol la formule chalconique (I). ASAHINA et INUBUSE [*Ber. Chem. Ges.*, 1928, 61, 1514] ont repris l'étude du naringétol : ils n'ont pu l'hydrogéner et ils pensent pouvoir le ranger dans le groupe tautomère des flavanones III.

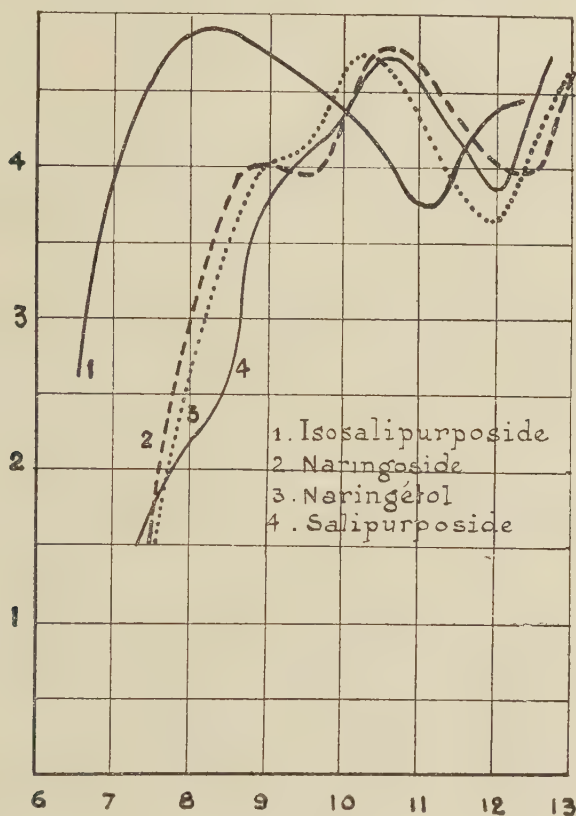


De plus, le naringétol fournit une coloration mauve très pâle sous l'influence de l'acide chlorhydrique concentré additionné de magnésium, réaction qui serait caractéristique du groupe flavanone. Cependant l'hydrogénation du naringétol déjà effectuée par FRANKS, est à nouveau effectuée par K. W. ROSENMUND et M. ROSENMUND [*Ber. Chem. Ges.*, 1928, 61, 2608-2612] avec le palladium et P. PREIFFER et ses élèves [*Journ. of prakt Chem.*, 1932, 119, 109-130] ont hydrogéné de nombreuses chalcones ou hydrochalcones en solution acétique par la mousse de Pt et l' H^2 . Il est possible que l'acide chlorhydrique puisse cycliser, pour une faible part, la formule chalconique du naringétol et permettre ainsi une réaction faiblement positive sous l'influence du magnésium chlorhydrique.

L'isosalipurposide, hétéroside jaune analogue à de nombreux flavonolosides, doit posséder la forme flavanone : cette structure flavanonique doit être excessivement labile puisque l'hydrolyse par un ferment, l'émulsine, rompt le groupement de flavanone et le transforme en chalcone.

La transformation du salipurposide en isosalipurposide, ou la transformation inverse, apporterait un argument en faveur de ces vues : nous n'avons pu la réaliser.

Les courbes spectrophotométriques ci-jointes, obligeamment communiquées par Mme RAMART LUCAS (1), (2), montrent clairement les rapports de couleur dans l'ultrat-violet qui existent entre le naringoside et le salipurposide, d'une part, et le naringétol, d'autre part. La courbe de l'isosalipurposide indique la différence de structure avec les deux premiers hétérosides.



RAPPORTS DU NARINGOSIDE ET DE L'ISOHESPÉRIDOSIDE. — Certains auteurs [ROSCOE, SCHORLEMMER, BRÜHL (*Organische Chemie*, 6, 1901, 593)] pensent que l'isohespéridoside découvert par Ch. TANRET [*Journ. Pharm. et Chim.* (3), 1886, 13, 304] dans l'écorce d'orange amère est identique au naringoside. J'ai pu

(1) Mme RAMART LUCAS. — Relation entre la structure des molécules organiques et leurs spectre d'absorption dans l'ultra-violet. *Bull. Soc. Chim.* (4), 1932, 51, 289.

(2) Mme RAMART LUCAS et J. RABATÉ. — Structure des hétérosides d'après leurs spectres d'absorption. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, 196, 1493.

comparer facilement les deux hétérosides, possédant dans nos collections un échantillon d'isohespéridoside préparé par Ch. TANRET.

L'isohespéridoside forme des cristaux blancs, très légèrement teintés de jaune, très solubles dans l'eau chaude, presque insolubles à froid. Il fond à $+ 183^{\circ}$ en même temps que le naringoside et qu'un mélange des deux produits. Son pouvoir rotatoire est de (anhydre) $\alpha_D^{20} = - 90^{\circ},80$. Hydrolysé par les acides dilués, il fournit 55,20 p. 100 d'un mélange de sucres réducteurs ($\alpha_D = - 31^{\circ},2$) et 46,14 d'un produit de dédoublement fondant à $+ 248^{\circ}$. Une purification dans l'acide acétique fournit un produit en tous points identique au naringétol.

M. C. CHARAUX (*l. c. p.* 81) a déjà signalé que l'isohespéridoside résiste à l'hydrolyse par la rhammodiastase : nous avons vu que le naringoside se comporte de la même façon.

CONCLUSIONS. — Le salipurpol est identique au naringétol produit de dédoublement du naringoside. Le naringoside, identique à l'isohespéridoside, ne diffère du salipurposide que par la présence d'une molécule de rhamnose. Les deux oses du naringoside sont probablement réunis sous forme d'un glucorhamnoside.

Nous pensons que le naringétol possède une formule chalconique et non la formule flavanonique attribuée par ASAHINA à ce produit.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES. — Les feuilles de *Salix purpurea* L. renferment du saccharose, du *salicoside*, du *populoside* et du *flavopurposide*, hétéroside flavonolique nouveau dont nous avons décrit les caractères et entrepris l'étude chimique.

Les rameaux ♂ et ♀ ont des teneurs en glucides très voisines.

Les rameaux ont des compositions différentes suivant leur âge ; les rameaux très jeunes ont une composition analogue à celle des feuilles : cependant ils ne renferment pas de flavopurposide.

Les rameaux plus âgés contiennent, à côté de saccharose, du *salicoside* et un hétéroside nouveau le *salipurposide*. La partie interne de l'écorce des rameaux très vieux nous a permis d'isoler un autre hétéroside l'*isosalipurposide*.

Le salipurposide et l'isosalipurposide sont hydrolysés par les acides dilués ou par l'émulsine en donnant du *glucose* et du *salipurpol*. Le salipurpol se scinde sous l'action des alcalis en *phlo-*

roglucinol et *acide paracoumarique*. Le salipurpol, est donc du *déhydrophlorétol* ; il est identique au *naringétol*.

Ces deux hétérosides provoquent la glycosurie chez le Chien : nous supposons que la structure du groupe prosthétique est de forme chalconique dans le salipurposide et de forme flavanonique dans l'isosalipurposide.

Salix nigricans Sm.

Le *Salix nigricans* Sm. est un arbuste assez polymorphe. Nous avons étudié deux échantillons très différents au point de vue de l'origine : l'un nous est procuré par M. PONS et provient des environs de Briançon ; l'autre est prélevé dans l'Arboretum de Chèvreloup. Les résultats obtenus sont qualitativement les mêmes avec ces deux échantillons. Les feuilles noircissent intensément au cours de la dessiccation ; il en est de même si l'on provoque l'autolyse des tissus par des vapeurs d'éther ou de chloroforme.

TRAVAUX ANTÉRIEURS. — La composition chimique de cet arbuste est pour ainsi dire inconnue. Nous n'avons trouvé dans la littérature qu'un seul travail de E. JOHANSON (*l. c. p. 11*). Cet auteur y signale la présence de benzoylhélicoside ; le benzoylhélicoside se formerait par oxydation nitrique du populoside. Le benzoylhélicoside ne semble pas avoir été obtenu par JOHANSON à l'état pur ; il ne donne dans son mémoire aucune constante physique ; les produits d'hydrolyse acide n'ont pas été obtenus purs ni caractérisés : les analyses élémentaires ne concordent que très mal avec la théorie. L'existence du benzoylhélicoside n'est donc pas prouvée : au cours de notre étude, nous n'avons pas obtenu cet hétéroside. D'ailleurs, les écorces soumises à l'action de la potasse alcoolique à froid ne nous ont pas permis d'observer l'odeur caractéristique de benzoate d'éthyle : cette réaction est très sensible et permet de caractériser sûrement le populoside et, en général, tous les esters benzoïques.

PRÉPARATION DES LIQUIDES D'ESSAI. — Les organes frais sont épuisés à l'alcool bouillant. Les solutions alcooliques sont distillées à sec. L'extrait est repris par l'eau tiède et agité rapidement à l'éther. La solution aqueuse est abandonnée pendant quelques jours au frais. Dans l'essai des feuilles, il se dépose de très fins cristaux que nous étudierons sous le nom de *Salinigrificoflavonololide*.

ESSAIS BIOCHIMIQUES. — Les solutions aqueuses limpides sont alors légèrement chauffées pour chasser l'éther, puis elles sont soumises à l'essai biochimique classique à l'invertine et à l'émulsine. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

	Feuilles fraîches	Rameaux de 2 mois	Ecorce de l'année	Rameaux de 2 à 3 ans	Ecorces âgées	Pétioles
	I	II	III	IV	V	
α 1.....	— 56'	— 23'	— 2°45'	— 6°8'	— 6°28'	— 16'
α i.....	— 3°44'	— 39'	— 5°32'	— 12°44'	— 6°48'	— 1°38'
α e.....	— 1°45'	— 6'	— 6'	— 8°25'	— 1°45'	+ 3'
SR. 1....	0,963	0,164	0,646	2,821	1,128	0,280
SR. i....	2,545	0,331	2,352	6,973	1,564	1,074
SR. e....	3,194	0,528	3,855	7,950	2,616	1,718
$\Delta \alpha$ i.....	2°48'	16'	2°46'	6°36'	20'	1°22'
Δ SR. i..	1,582	0,167	1,706	4,151	0,442	0,790
I i.....	575	619	616	629	1330	578
$\Delta \alpha$ e....	1°59'	33'	5°26'	4°19'	5°3'	1°41'
Δ SR. e..	0,649	0,197	1,503	0,977	1,502	0,644
I e.....	327	358	276	226	209	382

Tous les essais, sauf celui des écorces âgées, subissent sous l'influence de l'invertine un recul important de la déviation vers la gauche. Dans le cas des rameaux de 2 à 3 ans ce recul atteint 6°36'. Les indices de réduction enzymolytique sont très voisins de 604, indice du saccharose. Tous les organes, sauf les écorces âgées, renferment donc une assez forte proportion de saccharose.

Sous l'influence de l'émulsine, on observe de forts retours de la déviation vers la droite ; mais les essais se classent en 2 catégories : les feuilles et les rameaux très jeunes renferment un hétéroside dont l'indice de réduction enzymolytique est voisin de 330 : dans les autres essais, l'indice de réduction baisse progressivement pour atteindre, dans les écorces âgées, le chiffre de 209.

De plus, si, après l'action de l'émulsine, nous déféquons le reste de l'essai biochimique à l'extrait de Saturne, et que nous épuisons le liquide ainsi déféqué avec de l'éther, l'éther en s'évaporant abandonne des cristaux qui diffèrent selon les essais.

Les feuilles fournissent un produit fondant à + 82°. Les écorces âgées et les rameaux de 2 ans fournissent un produit

fondant à $+ 105^{\circ}$: les autres essais donnent des produits dont les points de fusion sont inférieurs à 70° .

Ces résultats s'interprètent facilement si l'on admet la présence dans le *Salix nigricans* de 2 hétérosides. Cette hypothèse est vérifiée par les essais d'extraction : les feuilles renferment uniquement du *salicoside*, les écorces âgées uniquement du *picéoside*. Les rameaux renferment des proportions variables de ces 2 hétérosides, la proportion de picéoside augmentant rapidement avec l'âge des rameaux.

Nous avons également analysé les pétioles des feuilles. Ils présentent une composition chimique tout à fait semblable à celle des feuilles, aux quantités près. Le glucide hydrolysable par l'invertine est du saccharose, alors que l'émulsine hydrolyse du salicoside. Le reste de l'essai, déféqué et agité à l'éther, fournit du saligénol. La présence du salicoside seul dans ces organes nous semble ainsi prouvée ; nous n'avons pu l'en extraire, étant donné la difficulté de récolte du matériel. Constatons simplement la présence du salicoside au niveau des pétioles sans que nous puissions dire s'il est, à ce moment, transporté vers l'écorce par les canaux libériens, ou bien, s'il est simplement déposé dans les tissus du pétiole.

EXTRACTION DU SALICOSIDE DES FEUILLES. — Les feuilles sont épuisées comme pour la préparation des liquides d'essais. La solution aqueuse ainsi obtenue est déféquée à l'extrait de Saturne. L'extrait obtenu est épuisé au moyen d'ester acétique hydraté ; il abandonne des cristaux qui sont purifiés par une cristallisation dans l'alcool absolu. 1 kg. de feuilles nous fournit 8 g. de produit pur : c'est du *salicoside*. (P. F. $+ 202^{\circ}$: $\alpha_D = - 62^{\circ},29$, indice de réduction enzymolytique de 325).

Les feuilles du *Salix Nigricans* renferment donc bien du salicoside. L'étude biochimique nous a montré que les feuilles ne renferment pas de picéoside.

EXTRACTION DU PICÉOSIDE DES ÉCORCES AGÉES. — Les écorces âgées sont traitées de la même façon que les feuilles. On obtient dans les mêmes conditions, un hétéroside différent, le *picéoside*. (P. F. $= + 195^{\circ}$; $\alpha_D = - 87^{\circ},26$ (anhydre)).

Ainsi que nous l'avons vu plus haut, les cristaux obtenus après l'action de l'émulsine par agitation du liquide à l'éther fondent à $+ 104^{\circ}$ (Picéol $+ 109^{\circ}$). Ce faible écart dans les points de fusion nous conduit à penser que les écorces âgées renferment uniquement du picéoside,

EXTRACTION DU PICÉOSIDE DES RAMEAUX (*Essai III*). — Les rameaux sont traités comme les écorces âgées. Après défécation plombique et évaporation à sec du liquide déféqué, l'extrait obtenu est repris par l'alcool absolu. Par refroidissement, il se forme des cristaux. 30 g. de rameaux d'un an nous fournissent ainsi 0 g.,60 de cristaux qui sont purifiés par cristallisation dans l'eau. Le produit pur ainsi obtenu possède un point de fusion de $+ 195^{\circ}$; un pouvoir rotatoire de $\alpha_D = - 86^{\circ},31$. Par hydrolyse à l'émulsine, il fournit 61,43 de glucose. C'est encore du *picéoside*.

Les eaux-mères de cristallisation sont hydrolysées par l'émulsine, puis agitées à l'éther. Celui-ci abandonne une huile incristallisable. Ce produit est dissous dans l'eau chaude et additionné de perchlorure de fer dilué. Il se développe une coloration violette qui est comparée au colorimètre avec une solution titrée de saligénol additionnée de perchlorure de fer. On constate que le liquide huileux renferme environ 10 p. 100 de saligénol. Le picéol ne donne, avec le perchlorure de fer, qu'une coloration violette extrêmement pâle.

En première approximation, on peut donc admettre que les rameaux renferment un mélange de salicoside et de picéoside, le salicoside existant en proportion 10 fois plus faible que le picéoside.

EXTRACTION DU SALICOSIDE DE L'ÉCORCE DE RAMEAUX D'UN AN. (*Essai III*). — Cette extraction est effectuée sur un liquide aqueux correspondant à 100 g. d'écorce. Elle est conduite comme celle de *S. Retusa* (voir p. 107).

Le liquide aqueux est additionné d'invertine. Au bout de 2 jours, on défèque la solution par 26 g. de MgO anhydre. Le saccharose sous l'action de l'invertine fournit du sucre interverti, plus facilement fixé par la magnésie (v. *S. Glauca*). Après reprise de la poudre déféquée par l'alcool à 95° , distillation des solutions alcooliques, reprise du résidu par 20 cm³ d'eau et filtration, nous éliminons le picéoside et la petite quantité de sucres réducteurs existant encore en solution, par addition de 2 cm³ de phénylhydrazine pure et de 1 cm³,5 d'acide acétique. Le mélange porté à l'ébullition deux minutes cristallise abondamment par refroidissement à la glacière. On essore et les eaux-mères, additionnées de benzaldéhyde, sont portées à l'ébullition ; on refroidit à la glacière et on essore le précipité de benzaldéhyde-phénylhydrazone ainsi formé. Après avoir éliminé l'excès de phénylhydrazine, on enlève facilement l'excès de benzaldéhyde par trois épuisements à l'éther de la solution aqueuse qui est ensuite évaporée à sec et reprise par 10 cm³ d'alcool absolu. La solution alcoolique additionnée de noir animal et filtrée fournit 0 g.,15 de cristaux blancs, de saveur amère, se colorant en rouge par SO²H² concentré,

fondant à $+ 200^{\circ}$ et fournissant du saligénol (P. F. = $+ 84^{\circ}$) sous l'action de l'émulsine.

C'est du salicoside pur.

Cette méthode de recherche du salicoside en présence de picéoside est très sûre puisque nous avons pu opérer sur 100 g. d'écorce fraîche seulement.

CONCLUSIONS. — En dehors d'un hétéroside insoluble dans l'eau, les feuilles de *Salix nigricans* Sm. ne renferment que du salicoside qui a été extrait à l'état pur.

Les rameaux âgés ne renferment que du picéoside qui a été extrait et caractérisé en toute certitude. La teneur en picéoside est voisine de 1 g.,75 p. 100 g. d'écorce fraîche.

Les rameaux jeunes ont une composition glucidique intermédiaire ; la quantité de salicoside diminue rapidement et la quantité de picéoside augmente au fur et à mesure que les rameaux vieillissent.

Les organes jeunes renferment tous du saccharose.

Remarquons que seuls noircissent par autolyse les organes qui renferment du salicoside (feuilles et jeunes écorces).

Ainsi que les recherches entreprises nous l'ont montré, le *Salix Nigricans* Sm. n'est pas la seule Salicacée qui présente cette variation curieuse dans la nature des hétérosides, les espèces que nous étudierons par la suite nous montrerons une composition glucidique semblable.

SALINIGRICO-FLAVONOLOSIDE.

PRÉPARATION. — Au cours du traitement des feuilles de *Salix Nigricans* de diverses origines (Briançon et Jardin de Jussieu, à Versailles), il se forme, dans la liqueur aqueuse obtenue par distillation des colatures alcooliques d'épuisement, un précipité cristallin jaune verdâtre qui constitue le salinigricoflavonoloside.

On a beau conduire l'extraction des feuilles très rapidement, il est impossible d'effectuer l'épuisement de la solution aqueuse des feuilles par l'éther sans que le salinigricoflavonoloside ne cristallise. Il reste souillé de chlorophylle ; il est de ce fait difficile à recueillir et les purifications ultérieures causent de grandes pertes. Le rendement en produit brut est de 3 g.,25 par kg.

PURIFICATION. — Elle est rendue très difficile par la faible solubilité de cet hétéroside dans la plupart des solvants, même bouillants. 5 g.,20 de produit brut sont délayés dans 200 cm³ d'alcool à 70°. On ajoute alors 3 cm³ de lessive de soude ; il se forme un sel de sodium de l'hétéroside très soluble dans l'eau et dans l'alcool faible, insoluble dans l'alcool fort. La solution alcaline est filtrée et additionnée lentement d'acide sulfurique au 1/10 jusqu'à léger excès. Il se forme des cristaux jaunes groupés en rosace. Les cristaux sont dissous dans la pyridine, à chaud. La solution filtrée est additionnée de 2 volumes d'eau ce qui amène la formation de fins cristaux déjà très purs. Néanmoins, nous effectuons une dernière purification en milieu alcoolique alcalin comme plus haut.

1 kg. de feuilles fraîches fournit 1 g.,75 de produit pur.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Le salinigriflavanoloside se présente sous forme de poudre jaune verdâtre formée de cristaux microscopiques, sans odeur ni saveur, presque insolubles à froid dans les solvants usuels : la pyridine chaude le dissout en quantités notables ; son pouvoir rotatoire en solution pyridinique est de :

$$\alpha_D = -9^{\circ},5 \text{ (} p = 0,0593 : v = 10 \text{ . } l = 1 : \alpha = -34' \text{)}$$

Ce pouvoir rotatoire très faible, la légère solubilité de l'hétéroside dans la pyridine et la coloration jaune des liqueurs ne permettent pas d'effectuer de détermination précise : le pouvoir rotatoire de ce produit est voisin de 9°.

Desséché dans le vide à + 80°, il perd 2,70 p. 100 d'eau. Le point de fusion du produit pur est de + 292° au bloc MAQUENNE.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Les alcalis le dissolvent en se colorant en jaune. Une solution alcoolique très diluée se colore en jaune brunâtre par Cl³Fe dilué. L'acide sulfurique concentré le dissout et fournit une fluorescence verdâtre.

HYDROLYSE PAR LES ACIDES DILUÉS. — Elle est extrêmement pénible, l'hétéroside étant insoluble dans l'eau acidulée ; le procédé qui fournit les meilleurs résultats est le suivant :

0 g.,20 de Salinigriflavanoloside sont chauffés à l'ébullition à reflux pendant six heures avec 25 cm³ d'acide acétique pur, employé comme solvant, et 25 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100. Au bout de 2 heures, le mélange commence à jaunir et tout se dissout en 3 heures. Le liquide jaune obtenu en fin d'hydrolyse est refroidi ; il ne se

dépose rien ; on ajoute alors 150 cm³ d'eau et la liqueur est épuisée deux fois à l'éther qui s'empare de l'aglycone ; les solutions éthérées sont évaporées à sec et reprises par l'acide acétique pur. Il se forme des aiguilles jaunes du flavonol correspondant à l'hétéroside analysé.

Les solutions aqueuses sont concentrées à 50 cm³. Elles renferment une quantité de sucre réducteur de 0.0925 correspondant à 49,3 p. 100 de l'hétéroside primitif.

La déviation polarimétrique de cette solution conduit à assigner au sucre réducteur formé par l'hydrolyse le pouvoir rotatoire de $+ 33^{\circ}8$. Une autre hydrolyse nous a donné $[\alpha]_D = + 31^{\circ}9$. La quantité d'hétéroside obtenu était trop faible pour que nous puissions isoler ce produit.

Les réactions suivantes nous permettent de penser qu'il est formé d'un mélange de glucose et de rhamnose ; ce mélange possède un pouvoir rotatoire tout à fait voisin de ceux que nous avons observés.

1. Si l'on chauffe avec l'orcinol chlorhydrique une goutte de la solution obtenue plus haut, il se développe une coloration brune assez caractéristique, due au rhamnose ; à aucun moment nous n'avons observé la coloration violette due aux pentoses.

2. Si nous préparons l'osazone du liquide d'hydrolyse selon le mode habituel, nous constatons qu'il se forme par refroidissement lent deux sortes de cristaux ; des cristaux de glucosazone typique et des cristaux tabulaires jaunes ; la rhamnosazone préparée dans les mêmes conditions se présente sous forme de très longs cristaux entrelacés, différents de ceux obtenus dans l'hydrolyse du flavonoside.

La teneur en sucre réducteur du salinigricoflavonolosite est voisine de 49 p. 100 : l'hydrolyse est très pénible et le dosage des sucres ne peut se faire avec la rigueur habituelle. Cet hétéroside fournit probablement, dans ces conditions, du glucose et du rhamnose (?)

SALINIGRICOFLAVONOL. — Préparé comme nous l'avons vu plus haut, il forme des cristaux jaunes fondant instantanément au bloc MAQUENNE à $+ 208^{\circ} + 209^{\circ}$, le produit placé sur le bloc vers 180° ne fond plus ensuite que vers 255° .

Une purification n'élève pas son point de fusion ; il perd 2,68 p. 100 d'eau à $+ 80^{\circ}$ dans le vide.

Il est insoluble dans l'eau mais il est très soluble, en jaune intense, dans les lessives alcalines diluées. Il cristallise facilement par refroidissement d'une solution dans l'acide acétique faite à chaud,

Une solution alcoolique étendue d'eau fournit avec Cl^3Fe dilué une coloration jaune verte.

ANALYSES ÉLÉMENTAIRES. — Elles sont effectuées par voie microanalytique sur le produit desséché dans le vide :

Salinigricroflavonoloside.

Poids du corps :

4,295; CO_2 : 8,300; H_2O = 2,295 C p. 100 = 52,8, H p. 100 = 5,98
4,020 » 7,790 » = 2,115 » = 53,0, » = 5,88

Salinigricroflavonol.

Poids du corps :

4,495 — CO_2 = 10,100; H_2O = 1,855; C p. 100 = 61,6, H p. 100 = 4,62
4,280 » = 9,610; » = 1,755; » = 61,4, » = 4,58

Il nous est difficile d'établir la formule brute de ces produits dans l'ignorance où nous sommes du poids moléculaire, même approché ; nous ne pouvons pas nous baser sûrement sur la teneur en sucre réducteur obtenue plus haut ; de plus la nature des sucres réducteurs est mal connue.

FUSION ALCALINE. — Nous avons provoqué la fusion alcaline de 0 g.,12 de flavonol comme nous l'avons déjà fait pour le flavopurpol ; nous avons pu retirer de la même façon 0 g.,04 d'un produit fondant à $+ 200^\circ$ au bloc MAQUENNE, se colorant en vert foncé intense par Cl^3Fe dilué ; cette coloration vire au rouge vineux intense par addition de quelques gouttes de $\text{CO}_3^2 \text{Na}^2$ à 5 p. 100. Ce produit dégage du gaz carbonique de la solution saturée de CO_2HNa . Comme dans le cas du flavopurpol ou du daphnéflavonol, c'est aussi de l'acide *protocatéchique* ; cependant le flavonol du *Salix nigricans* est différent du flavopurpol ou du daphnéflavonol ainsi que le démontrent les points de fusion (339° , 325° et 209°).

CONCLUSIONS. — Le produit retiré des feuilles de *Salix nigricans* est bien un hétéroside ; nous l'avons appelé salinigricroflavonoloside pour rappeler, d'une part, son origine, d'autre part, la nature de son produit de dédoublement qui est un *flavonol*.

L'hydrolyse sulfurique en est très pénible ; elle fournit un mélange de sucres réducteurs qui est *probablement* formé de glucose et de rhamnose ; le flavonol a été isolé à l'état pur ; il fournit par fusion alcaline de l'acide protocatéchique comme le flavopurpol, dont il est cependant différent.

La constitution chimique de cet hétéroside n'a pu être établie.

Salix glauca L.

Le Salix Glauca L. est une espèce haute de 1 à 2 mètres au maximum, qui croît dans les hautes montagnes. Nous avons utilisé dans nos recherches un échantillon typique recueilli dans la vallée de Combe noire au Lautaret en août 1930. Cet arbuste se présente sous forme d'un buisson étalé dont les branches mâles, couvertes de châtons portent des feuilles extrêmement velues, si caractéristiques de cette espèce.

Au cours de nos excursions dans les massifs du Briançonnais, j'ai pu retrouver le *Salix Glauca* L. en grande abondance, aux sources de la Durance, sur les hautes prairies du Gondran ; cette espèce, d'ailleurs, paraît s'hybrider facilement et j'ai pu observer un hybride probable non encore décrit de *S. Glauca* L. avec *S. Myrsinites* L. qui croît au même endroit.

Le *Salix Glauca* L. n'a fait l'objet d'aucune recherche. Nous l'avons examiné selon la méthode générale exposée dans l'introduction. Voici les résultats de nos essais biochimiques :

	Ecorce de de grosses tiges (déféquée)	Ecorce de grosses tiges	Petites tiges	Feuilles	Ecorce déféquée à MgO.	Ecorce déféquée à CO ³ Mg.
α_1	— 3°47'	— 3°40'	— 1°44'	— 31'	— 4°24'	— 4°52'
α i.....	— 6°25'	— 6°41'	— 3°36'	— 1°38'	— 4°58'	— 6°39'
α e.....	+ 25'	+ 36'	+ 20'	— 41'	+ 1°14'	+ 4'
S. R. 1.	1,352	1,482	0,831	1,027	0,289	1,090
SR. i...	3,240	3,724	1,970	1,729	0,692	2,140
SR. e...	5,029	5,519	2,980	2,08	2,240	3,900
$\Delta \alpha$ i....	2°38'	3°1'	1°52'	1°7'	34'	1°47'
Δ SR. i..	1,898	2,242	1,139	0,702	0,403	1,050
I i.....	720	745	597	632	695	611
$\Delta \alpha$ e...	6°50'	7°17'	3°56'	57'	6°12'	6°43'
Δ SR. e.	1,789	1,795	1,010	0,350	1,548	1,76
I e.....	261	245	257	367	248	262

FEUILLES. — Les feuilles renferment une quantité importante de sucre réducteur initial (1.03 p. 100) et environ 0 g.,70 de saccharose. Il existe une faible quantité d'un hétéroside dont l'indice de réduction (367) est très voisin de celui du salicoside.

Nous en avons tenté l'extraction sur 350 g. de feuilles ; les liquides aqueux d'extraction des feuilles (v. p. 17) sont déféqués par addi-

tion de 60 cm³ d'extrait de Saturne pur. Après élimination de l'excès de plomb par SH², le liquide aqueux est évaporé à sec. L'extrait obtenu est épuisé par deux fois à l'ester acétique hydraté. Les solutions estéro-acétiques évaporées à sec sont déféquées par la méthode à la chaux (v. p. 25) de façon à éliminer une petite quantité de sucres gênant la cristallisation. Finalement l'extrait résiduel est repris par quelques cm³ d'alcool à 99° qui abandonne 0 g.,05 de cristaux fondant à 202° et se colorant en rose vif par SO⁴H² concentré.

Les feuilles de *Salix glauca* L. renferment donc bien du salicoside.

Dans un autre essai, 300 g., de très jeunes feuilles, cueillies au même endroit, le 10 juillet 1933, sont traitées selon le mode habituel par 30 g. de MgO calcinée. La solution alcoolique est évaporée à sec et reprise par une petite quantité d'alcool absolu. Il ne se forme pas de cristaux. Le liquide alcoolique évaporé à sec est repris par l'eau et soumis à l'action de l'émulsine ; ce qui nous permet d'isoler du saligénol en petite quantité.

Les très jeunes feuilles analysées doivent être moins riches en salicoside ; ce qui empêche toute extraction de ce glucide à l'état pur.

ECORCES DES GROSSES TIGES. — Les 2 premiers essais biochimiques se rapportent à l'essai de l'écorce de grosses tiges. Le premier est effectué de la façon ordinaire ; la teneur en tanin de cette écorce étant considérable, l'action des ferments est fort lente : aussi le second essai est déféqué partiellement au sous-acétate de plomb.

ESSAI NON DÉFÉQUÉ. — L'action de l'invertine, provoque un retour important (3°1'). L'indice de réduction est de 745. Nous ne pouvons conclure sur la nature du sucre formé, car au cours de l'hydrolyse, il s'est formé un abondant précipité tannique qui peut fausser les dosages.

L'émulsine a presque terminé son action en 14 jours. Son action est cependant prolongée pendant 3 mois sans grands changements d'ailleurs. Le retour de la déviation pour 100 g. d'écorces est de 7°17'. La formation de sucre réducteur est de 1 g.,79. L'indice, 245, est tout à fait proche de celui du picéoside. Au bout de 2 jours le liquide d'essai présente une odeur de rose très marquée analogue à celle que nous avons observée dans le cas de *Salix Triandra* et *arbuscula*. Il est possible que le *Salix Glauca* renferme une petite quantité d'un glucide analogue au salidroside.

Après évaporation de l'éther, on obtient des cristaux fondant à $+ 107^{\circ}$ et possédant toutes les réactions du picéol. L'écorce fraîche de *S. glauca* semble donc renfermer une forte proportion (environ 3 g.) de picéoside (indice 230) que l'émulsine dédouble au glucose et picéol (P. F. = $+ 109^{\circ}$).

ESSAI DÉFÉQUÉ PARTIELLEMENT AU PLOMB. — Les résultats sont très voisins ; néanmoins l'action de l'invertine est terminée en 5 jours.

L'indice se rapproche *plus de celui du saccharose* que dans le cas précédent ce qui tendrait à démontrer le bien fondé de l'hypothèse formulée plus haut. La quantité de sucre réducteur formée sous l'action de l'émulsine est tout à fait voisine de celle observée dans l'essai ci-dessus. L'indice est très voisin (251 au lieu de 245). Les résultats sont tous un peu plus faibles, ce qui s'explique facilement par les pertes inévitables au cours de la défécation. Le résidu de cet essai biochimique est épuisé à l'éther. Après évaporation on obtient des cristaux fondant à $+ 103^{\circ}$. J'en ai préparé facilement la phénylhydrazone (l. c. p. 107). Elle fond en même temps que la phénylhydrazone du picéol (P. F. 151°). Le liquide d'essai présente aussi une odeur de rose très nette.

ESSAI D'EXTRACTION.

L'extraction du picéoside est très facile. Nous sommes partis d'un liquide aqueux correspondant à 200 g. d'écorce fraîche ; le liquide, amené à 600 cm³, est déféqué par addition de 55 cm³ d'extraît de Saturne pur. La défécation est conduite comme à l'ordinaire et, après distillation à sec du liquide débarrassé de l'excès de Pb par SH², on obtient un extrait qui se prend en une masse de cristaux que l'on essore. Poids des cristaux, 3 g.,20 ; $[[\alpha]_D = - 85^{\circ}65]$. Une purification dans l'alcool absolu permet d'obtenir 2 g. d'un produit fondant à $+ 196^{\circ}$, ne se colorant pas par SO⁴H² pur $[[\alpha]_D = - 86^{\circ}39]$.

Ce produit est facilement hydrolysable par l'émulsine et fournit 60.85 d'un sucre réducteur (glucose) et un groupement prosthétique fondant à $+ 109^{\circ}$.

Le corps ainsi isolé est du *picéoside* ainsi que nous l'a fait pressentir l'essai biochimique.

Une autre extraction est tentée par défécation à la magnésie. Le liquide correspondant à 230 g. d'écorce fraîche est additionné de 30 g. de magnésie légèrement carbonatée. La défécation et l'épuisement sont effectués comme à l'ordinaire et on extrait facilement 5 g. de picéoside sur les 7 g. qui existent dans la prise d'essai.

PETITES TIGES. — L'essai biochimique est effectué comme le précédent. La quantité de tanin est encore considérable et une dilution du liquide extractif est nécessaire pour obtenir une filtration convenable du liquide déféqué.

L'action de l'invertine démontre la présence dans les tiges d'un holoside, qui est probablement du saccharose (indice trouvé 597). Le pourcentage en est relativement élevé (1 g., 10 p. 100). L'émulsine provoque un important retour à la déviation ($3^{\circ}56'$) et l'indice de réduction 257 est tout à fait proche des indices obtenus dans l'essai des écorces de grosses tiges. Le liquide d'essai présente également l'odeur de rose.

Le reste du liquide d'essai est agité à l'éther qui, par évaporation, abandonne des cristaux incolores permettant d'obtenir le phénylhydrazone caractéristique du picéol. L'essai d'extraction prouve d'ailleurs la présence du picéoside dans les petites tiges.

L'essai est tenté sur 1 kg. de petites tiges comme plus haut, par défécation avec de la magnésie (carbonatée). Par évaporation de la solution alcoolique, on obtient un extrait qui se prend en une masse de cristaux que l'on délaie dans 60 cm³ d'eau. On obtient après essorage 7 g. de picéoside légèrement impur. Une cristallisation dans l'eau fournit 6 g. de picéoside pur soit 0 g., 60 de picéoside pur p. 100 g. de rameaux frais.

Les eaux-mères sont déféquées à la baryte pour tenter l'obtention du saccharose. On les concentre à 100 cm³ et on sature à froid d'hydrate de baryte. Le liquide est filtré et précipité par 100 cm³ d'alcool à 95°. Le précipité barytique est séparé des eaux-mères alcooliques, lavé à l'alcool et décomposé par SO⁴H² au 1/10. Après élimination du précipité de SO⁴Ba et neutralisation du léger excès de SO⁴H² par CO²Ca, le liquide filtré, limpide, présente une forte déviation droite. On le distille à sec dans le vide et on le reprend par 20 cm³ d'alcool à 95°. Au bout de 2 jours, on peut recueillir 1 g. de cristaux à saveur fortement sucrée [$[\alpha]_D = + 63^{\circ}2$ immédiatement stable]. Ce produit n'est pas réducteur et fournit par l'invertine du sucre interverti. Une purification dans l'alcool à 95° permet d'obtenir un produit pur.

Le saccharose existe bien dans les tiges de *S. Glauca* L.

ACTION DE LA MAGNÉSIE SUR LES DIFFÉRENTS GLUCIDES DU *S. GLAUCA*.

L'écorce de *S. Glauca* renferme des quantités facilement dosables de sucre réducteur initial, de saccharose et de picéoside. Aussi avons-nous pensé étudier l'action de la magnésie anhy-

dre ou carbonatée sur les glucides qu'elle contient. Le protocole expérimental est le suivant :

100 cm³ d'une solution correspondant à 116 g. d'écorce fraîche sont mêlés intimement à la spatule avec 15 g. de MgO récemment chauffée au four à moufle et conservée en flacon clos. On ajoute 50 cm³ d'eau car la masse s'échauffe et devient, surtout, trop épaisse. La pâte fluide obtenue, de couleur café au lait, est placée à l'étuve à 40° dans un plat. Le lendemain, la masse a légèrement bruni et s'est craquelée, la dessiccation est parfaite. On pulvérise finement. La poudre pèse 58 g.. Elle est épuisée par 200 cm³ d'alcool à 95° bouillant. On essore sur un filtre de Buchner, puis on lave avec 125 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Les solutions alcooliques, parfaitement incolores, sont distillées à sec. Les résidus entièrement cristallisés et blancs sont repris par 100 cm³ d'eau. On effectue un essai biochimique ordinaire sur ce liquide. Les résultats sont ramenés à 100 g. d'écorce fraîche et figurent dans le tableau sous le titre : écorce déféquée à la magnésie.

Un essai identique est effectué en remplaçant la magnésie par le carbonate de magnésie officinal.

La masse ne s'échauffe pas au cours du mélange. Les tanins sont mal précipités, car la pâte, bien plus fluide que dans l'essai précédent devient rouge brique, puis, brun noirâtre, au cours de la dessiccation. L'alcool d'épuisement est fortement jaune et le résidu obtenu par distillation de l'alcool est pâteux et mal cristallisé.

Comparons ces 2 essais à l'essai des écorces fraîches déféquées au plomb qui a donné lieu à des pertes à peu près semblables au cours des manipulations.

ESSAI DÉFÉQUÉ A LA MAGNÉSIE ANHYDRE. — La magnésie fixe très bien le sucre réducteur initial puisqu'il n'en reste que 14 p. 100. Le saccharose est fixé moins énergiquement ; il en reste 26 p. 100. La perte en picéoside n'est pas négligeable et atteint 13.5 p. 100 environ.

Cependant la magnésie anhydre présente un gros avantage au point de vue de l'extraction du picéoside. En effet, celui-ci n'est plus souillé que de 18 p. 100 de glucides étrangers et, malgré la faible fixation du picéoside, l'extraction se fait avec un rendement meilleur que dans le cas de la défécation plombique ou même de la défécation au carbonate de magnésie.

Le liquide d'essai est agité à l'éther. Ce solvant abandonne des croûtes cristallines formées de picéol presque pur (P. F. + 104°).

ESSAI DÉFÉQUÉ AU CARBONATE DE MAGNÉSIE. — Le carbonate de magnésie ne fixe que 20 p. 100 du sucre réducteur initial et 44 p. 100 seulement du saccharose. Le picéoside n'est pas absorbé (moins de 1 p. 100). Cependant le picéoside est alors souillé de 72 p. 100 de glucides étrangers alors que, dans la défécation plombique, 100 g. de picéoside sont souillés de 100 g. de glucides étrangers.

Ces chiffres expliquent comment nous avons pu obtenir facilement le saccharose par défécation à la magnésie anhydre ou légèrement carbonatée : le carbonate de magnésie laisse plus de 50 p. 100 du saccharose en solution.

L'essai déféqué au carbonate de magnésie, agité à l'éther à la fin de l'action de l'émulsine, fournit du picéol beaucoup plus impur que dans l'essai déféqué à la magnésie anhydre.

Nous avons également essayé une variante de ces 2 défécations. La pâte obtenue, au lieu d'être desséchée, est additionnée aussitôt de 5 volumes d'alcool à 95°. Le liquide est filtré ; il est fortement coloré et l'essai biochimique nous montre que les glucides réducteurs et le saccharose sont très mal fixés si l'on adopte ce mode opératoire : nous l'avons abandonné.

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *Salix Glauca* renferment p. 100 g., 0.70 de saccharose et une quantité de sucre réducteur formé par l'émulsine de 0.35. L'hétéroside dédoublé par l'émulsine est du salicoside que nous avons pu isoler en petites quantités. Les écorces des grosses tiges renferment à côté de 1 g.,35 de sucre réducteur initial 2 g.,20 de saccharose (isolé à l'état pur). Le glucide hydrolysable par l'émulsine est du picéoside. La teneur de l'écorce fraîche en picéoside est de 3 g. p. 100. Nous avons retiré le picéoside pur de cette écorce par défécation plombique. La défécation magnésienne nous a également permis de l'obtenir avec un rendement excellent. Nous avons montré que la magnésie anhydre fixe 86 p. 100 du sucre réducteur, 74 p. 100 du saccharose et 13,5 p. 100 du picéoside. Le carbonate de magnésie ne fixe que 20 p. 100 du sucre réducteur initial et 44 p. 100 du saccharose ; le picéoside n'est pas fixé. Malgré la perte légère en picéoside observée dans la défécation à la magnésie anhydre, les rendements en picéoside pur sont bien meilleurs par ce procédé.

Les jeunes tiges renferment 0.831 de sucre réducteur initial, 1,12 de saccharose (isolé à l'état pur) et 1 g.,70 de picéoside que nous avons retiré facilement par défécation magnésienne. Il

existe probablement un hétéroside différent du picéoside dans les écorces ; il n'a pu être retiré.

Au cours de l'étude des écorces et des tiges, nous avons observé que l'émulsine provoque la formation d'une fine odeur de rose. Nous pensons que ce fait est dû à l'hydrolyse par l'émulsine d'un hétéroside voisin ou identique au salidroside, existant en petites quantités dans les tiges du *Salix Glauca*.

Le *Salix Glauca* L. par la nature de ses hétérosides se rapproche donc beaucoup du *Salix nigricans*.

Salix phylicifolia L.

Ce spécimen nous a été fourni par l'Arboretum de JUSSIEU à Chèvreloup. Il présente les caractères typiques de cette espèce. BRACONNOT [l. c. p. 11] n'a pu retirer le salicoside de *Salix Phyllicifolia*.

	Feuilles	Rameaux de 1 an
α_1	+ 38'	— 39'
αi	— 1°37'	— 1°59'
αe	— 39'	+ 14'
SR. 1 ...	0,845	0,421
SR. i....	2,190	1,223
SR. e....	2,570	1,777
$\Delta \alpha i$	2°15'	1°20'
Δ SR. i..	1,345	0,802
I i.....	610	603
$\Delta \alpha e$	58'	2°13'
Δ SR. e..	0,380	0,554
I e.....	400	238

ETUDE DES FEUILLES. — L'examen de l'essai biochimique nous indique la présence d'une forte quantité de saccharose (1,30 p. 100) et d'une petite quantité d'un glucide hydrolysable par l'émulsine sur la nature duquel nous ne pouvons actuellement nous prononcer. Enfin nous avons remarqué que la solution aqueuse de plante agitée à l'éther abandonne au bout de plusieurs mois une faible quantité de petites aiguilles jaune pâle : c'est un hétéroside flavonique dont l'étude est poursuivie.

ESSAI D'EXTRACTION. — Après défécation magnésienne, l'alcool absolu abandonne des cristaux de saveur sucrée $[[\alpha]_D = + 64^\circ 2]$ c'est du *saccharose*. Le liquide n'a pas abandonné d'autres cristaux. Les

eaux-mères sont distillées à sec et reprises par de l'eau, soumises à l'action de l'émulsine après défécation au sous-acétate de plomb. Le filtrat est épuisé à l'éther qui abandonne une substance huileuse. Dissoute dans l'eau, elle ne fournit avec Cl^3Fe dilué qu'une coloration mauve peu nette.

La présence du salicoside dans ces feuilles n'est donc pas prouvée.

ETUDE DES RAMEAUX. — Les rameaux d'un an analysés dans cet essai, renferment un holoside hydrolysable par l'invertine qui est probablement du saccharose (indice 608).

L'émulsine provoque une importante apparition de sucre réducteur. L'indice 238, est tout à fait proche de celui du picéoside. De plus, le liquide d'essai agité à l'éther après défécation lui cède de petites quantités d'un corps cristallisé ne se colorant qu'en violet très pâle par Cl^3Fe .

ESSAI D'EXTRACTION. — 200 g. de rameaux frais sont déféqués par le procédé à la chaux. Le résidu repris par l'alcool absolu abandonne des cristaux de saveur sucrée, $[\alpha]_D = + 66^\circ 8$, hydrolysables par les acides très dilués à l'ébullition en donnant du sucre interverti : le corps obtenu est du saccharose dont la présence dans les tiges est ainsi confirmée.

Les eaux-mères sont alors évaporées à sec et reprises par 20 cm³ d'ester acétique hydraté. On décante après refroidissement. Le liquide abandonne des cristaux que l'on recueille. Pds = 0.13. Les eaux-mères concentrées fournissent encore 0.20 de cristaux semblables. On purifie par cristallisation dans quelques cm³ d'eau. Le produit obtenu est du picéoside (Poids = 0.10) ; il fond à $+ 195^\circ 5$ $[\alpha]_D = - 86^\circ 95$ et fournit par hydrolyse à l'émulsine un corps fondant à $108^\circ 5$ (picéol).

Les rameaux de *Salix Phylicifolia* renferment à côté de saccharose, du picéoside obtenu à l'état pur.

Les feuilles renferment à côté du saccharose un hétéroside flavonique dont l'étude sera poursuivie. Le salicoside n'a pu être retiré des feuilles de *S. Phylicifolia*.

Salix grandifolia Ser.

Nous avons en vain recherché cette espèce dans le vaste Salicetum qui s'étend du Villard d'Arène au Village d'Arsine, le long torrent du Lautaret et de la Romanche où cette espèce a été signalée. Je n'ai découvert que quelques exemplaires de

cette espèce à la lisière supérieure du Bois de la Madeleine (Lautaret). Cet échantillon est recueilli en juillet et traité quelques jours après : les feuilles très velues et non encore complètement développées ont noirci pendant le transport ; j'ai dû les jeter, mais ce phénomène de mélanogénèse nous amène à penser que nous sommes en présence d'organes renfermant du salicoside. Je me suis borné à analyser l'écorce de *S. Grandifolia* arrivée seule en bon état.

$\alpha 1$ — $1^{\circ}46'$	SR. 1 0,410	$\Delta \alpha i$ 17'	$\Delta \alpha e$ $2^{\circ}38'$
αi — $2^{\circ}3'$	SR. i 0,500	Δ SR. i 0,190	Δ SR. e 0,572
αe + $35'$	SR. e 1,172	Ii 654	Ie 217

L'action de l'invertine permet de penser que cette écorce renferme du saccharose, mais en quantité très faible.

L'émulsine provoque un important retour de la déviation ($2^{\circ}38'$) et l'indice est de 217. De plus, le reste de l'essai biochimique déféqué à l'extrait de Saturne est agité à l'éther et fournit quelques centigrammes de cristaux incolores fondant vers 100° et ne se colorant qu'en violet très pâle par Cl^3Fe dilué.

L'écorce de *S. Grandifolia* renferme presque uniquement du picéoside (environ 0.90 p. 100 g.).

ESSAI D'EXTRACTION. — Il est conduit sur 100 g. d'écorce par défécation à la magnésie carbonatée. L'alcool d'épuisement évaporé à sec abandonne un résidu cristallin qui est recueilli, essoré à la presse (Pds = 0.40) et mis à cristalliser dans quelques cm^3 d'eau (Pds = 0 g., 20). Le produit présente toutes les propriétés physiques et chimiques du picéoside dont la présence dans cette écorce est ainsi démontrée.

CONCLUSION. — Les feuilles de *S. Grandifolia* renferment probablement du salicoside. L'écorce renferme un hétéroside, le picéoside, obtenu à l'état pur (0 g., 90 p. 100).

ECORCE DE SAULE NOIR (1).

On trouve dans le commerce de la droguerie, une écorce appelée « écorce de Saule noir », provenant de l'Amérique du Nord ou du Pérou, suivant les droguistes.

Cette écorce se présente en morceaux plus ou moins épais. L'écorce des tiges âgées est recouverte d'un suber mince et ne

(1) M. BRIDEL et J. RABATÉ. — Sur la présence du picéoside dans une écorce de Saule noir. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 332,

présente plus de lenticelles apparentes. Au contraire l'écorce de jeunes rameaux possède une couleur gris cendré ; elle est ridée longitudinalement et elle est recouverte de nombreuses lenticelles brunes. La face interne de ces écorces est brun acajou.

En 1900, H. A. D. JOWETT [*Journ. Chem. Soc.*, 1900, 77, 707-712] isole d'une écorce de Saule noir un hétéroside, la salinigrine.

Il étudie la constitution chimique de la salinigrine et la considère comme le glucoside de la m-hydroxybenzaldéhyde. Dans un autre article publié en collaboration avec C. E. POTTER [*Pharm. Journ.*, 1902, (4), 15, 157-159]. JOWETT établit que la salinigrine n'existe pas dans l'écorce du *Salix nigra* Marsch : il l'a rencontrée uniquement dans celle du *Salix discolor* Muhl. ; il lui conserve néanmoins le nom de *Salinigrine*.

**

M. BRIDEL et moi-même avons repris l'étude de deux échantillons d'écorce de Saule noir : nous avons montré que ces écorces renferment du picéoside en grande quantité (2 à 3 g. p. 100 d'écorce sèche) accompagné d'une petite quantité de salicoside. Les modes d'extraction et de caractérisation sont identiques à ceux que nous avons jusqu'alors employés dans cet exposé : nous ne les rapporterons pas ici, tous les détails opératoires se trouvant dans le travail ci-dessus mentionné.

Nous avons comparé les propriétés du picéoside retiré des écorces avec celles du salinigroside : l'identité des deux produits est certaine. Le salinigroside n'est donc pas le glucoside β de la m-hydroxybenzaldéhyde, comme le pense JOWETT : c'est le glucoside β de la *p*-hydroxyacétophénone.

Le nom de salinigrine doit disparaître de la nomenclature, la découverte du picéoside étant antérieure à celle du salinigroside.

Salix cinerea L. (1).

En 1875, EDWIN JOHANNSON signale, dans l'écorce de *Salix cinerea* L. la présence d'un corps nouveau dont il donne les principales propriétés. Il en effectue une étude sommaire et considère ce produit comme un hétéroside. D'après ses analyses élémen-

(1) J. RABATÉ. — La salicinéréine du *Salix cinerea* L. ; son identité avec le picéoside (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 965).

taires, il serait identique à la benzohélicine, glucoside de transformation obtenu à partir de la populine par PIRIA.

En 1890, F. JACOBY reprend l'étude de la composition chimique de l'écorce de *Salix Cinerea* L. Il en retire un produit ressemblant à celui obtenu par JOHANNSON. C'est la *salicinéréine*. Il en fait une étude approfondie, mais n'arrive pas à établir la formule développée de cet hétéroside. Cependant, il le différencie nettement, par plusieurs réactions, de la benzohélicine de PIRIA.

*
**

J'ai repris l'étude de l'écorce de *Salix cinerea* L. J'ai isolé un hétéroside qui ressemble à la salicinéréine de JACOBY et qui est identique au picéoside de Ch. TANRET.

J'ai d'abord soumis à l'essai biochimique les écorces fraîches de *Salix cinerea*. La présence de 1 g.,10 de saccharose et de 2 g. environ de picéoside y a été décelée. Le saccharose et le picéoside en ont été retirés et identifiés par les moyens habituels.

Je ne rapporterai pas ici les expériences décrites avec détail dans le mémoire déjà paru. La comparaison des propriétés physiques et chimiques du picéoside et de la salicinéréine a démontré l'identité de ces deux produits. Le nom de salicinéréine doit disparaître de la nomenclature chimique.

Salix reticulata L.

HERBERGER [*l. c.* p. 11] et BROWN [*l. c.* p. 35] ont décelé le salicoside dans les feuilles et les écorces de cette espèce.

Les échantillons destinés à l'analyse sont recueillis à la source du torrent du *Lautaret*. Dernièrement, j'ai pu rapporter des plantes de cette espèce qui semblent devoir s'acclimater dans la plaine.

Je n'ai pu traiter une grosse quantité de *Salix Reticulata* étant donné sa petite taille. Néanmoins, j'ai rapporté 850 g. de plante fraîche : les feuilles portées par des tiges à peine visibles ont été séparées des racines ; j'ai obtenu 220 g. de feuilles et 630 g. de racines qui sont traitées par l'alcool bouillant. L'essai biochimique est conduit comme à l'ordinaire ; les résultats sont les suivants ;

	Feuilles	Racines	Racines (après défécation)
α_1	— 44'	— 3°30'	— 2°12'
α i.....	— 2°4'	— 5°59'	— 5°
α e.....	— 1°15'	+ 56'	+ 58'
SR. 1.....	1,37	0,83	0,61
SR. i.....	2,22	2,41	2,43
SR. e.....	2,46	4,00	3,78
$\Delta \alpha$ i.....	1°20'	2°29'	2°48'
Δ SR. i.....	0,85	1,58	1,82
I i.....	654	636	654
$\Delta \alpha$ e.....	49'	6°55'	5°58'
Δ SR. e.....	0,24	1,59	1,35
I e.....	306	230	226

Les feuilles renferment un produit du groupe des flavonolosesides qui se dépose en masses jaunes après l'agitation à l'éther. Nous n'avons pu étudier ce produit, la quantité obtenue au cours de l'essai étant trop faible. On peut déduire que les feuilles renferment 0 g.,85 d'un polyholoside qui est probablement le saccharose, l'indice de réduction étant de 654. L'émulsine provoque un retour de la déviation vers la droite de 49'. L'indice de réduction est de 306, voisin de celui du salicoside. La présence de cet hétéroside est probable, car les feuilles de *Salix reticulata*, soumises à l'autolyse, noircissent de façon très intense. L'étude des racines permet d'affirmer la présence d'une forte proportion de saccharose (1 g.,36 pour 100 g. de racines fraîches). Le retour de la déviation sous l'influence de l'émulsine est considérable (6°55'), mais l'indice (230) est nettement différent de celui observé dans le cas des feuilles.

Comme la quantité de tanin contenue dans ces racines est considérable, nous avons jugé bon d'effectuer un autre essai biochimique de ces racines après avoir déféqué entièrement les liquides d'extraction par l'extrait de Saturne.

Les résultats observés au cours de l'essai biochimique sont du même ordre de grandeur que dans le cas précédent ; l'indice de réduction enzymolytique observé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine est presque identique au précédent. (226 au lieu de 230). Cet indice est très voisin de celui du picéoside (232).

EXTRACTION DES HÉTÉROSIDES. *Feuilles*. — Le liquide aqueux correspondant à 150 g. de feuilles est déféqué à la chaux (voir p. 25). Après distillation des colatures alcooliques, l'extrait est repris par l'eau ; la solution trouble est alors épuisée à l'éther, puis filtrée,

L'extrait de Saturne y produisant un précipité, elle est défé-
quée entièrement par le sous acétate de plomb. La solution aqueuse,
privée de l'excès de Pb par un courant de SH_2 est alors évaporée à
sec et reprise par 10 cm³ d'ester acétique hydraté. Après repos et
décantation celui-ci abandonne des cristaux blancs que l'on recueille.

Le rendement en produit pur est très faible (environ 0,05). Néan-
moins l'identification de ces cristaux au salicoside est certaine, puis-
qu'ils fondent à 200°, en même temps que le salicoside et qu'ils four-
nissent la coloration rose sous l'influence de l'acide sulfurique con-
centré.

Les feuilles examinées renferment donc une petite quantité
(environ 0.40 p. 100 g.) de salicoside, extrait à l'état pur.

Racines : Nous sommes partis d'une solution aqueuse correspondant
à 300 g. de racines fraîches. On défèque à l'extrait de Saturne (60
cm³). L'extrait obtenu se prend en une masse cristalline que l'on es-
sore. On obtient ainsi 2 g.,60 de cristaux, que l'on purifie par cris-
tallisation dans l'alcool absolu. Ils présentent alors un pouvoir rota-
toire de $-86^{\circ},78$. Ils fondent à $+196^{\circ}$ et sont hydrolysables par
l'acide sulfurique dilué en fournissant 61.63 d'un ose dont le pouvoir
rotatoire est de $+52^{\circ},8$ (glucose) et un produit non glucidique fon-
dant à $+109^{\circ}$ (picéol).

L'hétéroside ainsi obtenu est donc bien du *picéoside* et l'in-
dice de réduction observé dans les essais biochimiques étant très
voisin de l'indice théorique, nous pouvons penser que le picéo-
side existe seul dans ces racines ; la teneur en est voisine de
2 g.,2 pour 100.

CONCLUSION. — Les feuilles de *Salix reticulata* renferment
0.40 p. 100 de salicoside. Les racines renferment 2 g.,2 p. 100
de *picéoside*. Le salicoside n'a pu être caractérisé dans les raci-
nes et sa présence, notée par HERBERGER et BROWN, est peu pro-
bable.

Salix retusa L.

Le *Salix retusa* L. est une espèce des hautes montagnes. Je
l'ai rencontrée à la source du torrent du Lautaret ; j'ai égale-
ment recueilli l'espèce très voisine (*Salix serpyllifolia* Scop.)
qui fera l'objet d'une étude spéciale.

HERBERGER [l. c. p. 11] et plus récemment BROWN [l. c. p. 35]
ont isolé le salicoside des écorces et des feuilles de cette espèce.

Le *Salix retusa* L. est un saule rampant ; ses tiges sont très
courtes et couvertes de feuilles luisantes. La racine est fort im-

portante et c'est sur elle qu'a porté notre étude principale. Le traitement est effectué comme à l'ordinaire. Les essais biochimiques figurent ci-dessous :

	Feuilles	Racines
α_1	— 2°26'	— 3°25'
α_i	— 4°15'	— 6°
α_e	+ 5'	+ 51'
SR. 1.....	1,231	0,58
SR. i.....	2,39	2,18
SR. e.....	3,650	3,97
$\Delta \alpha_i$	1°49'	2°35'
Δ SR. i.....	1,159	1,60
I i.....	638	621
$\Delta \alpha_e$	4°20'	6°51'
Δ SR. e....	1,260	1,79
I e.....	291	261

Il est à remarquer que cette espèce renferme une grosse quantité de tanin.

Feuilles. — Le glucide hydrolysable par l'invertine est probablement du saccharose (indice 638). La quantité de saccharose dans ces organes serait de 1 g.,10. Le glucide hydrolysable par l'émulsine existe en quantités importantes, puisqu'on observe la formation de 1,26 de sucre réducteur. L'indice de réduction enzymolytique est de 291. Le reste de l'essai biochimique agité à l'éther fournit un produit cristallisé se colorant en violet intense par Cl^3Fe dilué ; le glucide hydrolysé par l'émulsine pourrait être le salicoside.

ESSAI D'EXTRACTION. — Cette espèce étant minuscule, il nous a été difficile de travailler sur de grandes quantités. Néanmoins le 1^{er} juillet 1933, j'ai pu cueillir 120 g. de feuilles qui sont traitées fraîches à l'alcool bouillant ; les liqueurs extractives sont déféquées par 10 g. MgO anhydre. Par évaporation, on obtient un résidu entièrement cristallisé qui est repris par 20 cm^3 d'alcool à 98°. Il ne tarde pas à se former des cristaux blancs que l'on recueille (poids 0 g.,15 : $\alpha_D = -61^\circ 5$. P.F. = + 199°). Coloration rose vif par SO_4H^2 concentré. C'est du salicoside presque pur. Une cristallisation dans l'alcool absolu amène ce produit à l'état de pureté. Il nous a fourni par hydrolyse à l'émulsine du saligénol (P. F. = + 84°).

Les feuilles de *S. Retusa* renferment donc bien du salicoside ainsi que HERBERGER et BROWN l'ont montré,

Racines. — Elles renferment 1 g.,60 de sucre hydrolysable par l'invertine ; l'indice étant de 621, nous pouvons penser que les racines de cette espèce contiennent 1 g.,50 environ de saccharose.

L'émulsine produit un retour de 6°51'. L'indice de réduction est de 261. Le liquide d'essai agité à l'éther fournit une masse pâteuse se colorant en violet foncé par Cl^3Fe .

ESSAI D'EXTRACTION. — Un premier essai effectué sur 280 g. de racines est conduit de la façon suivante :

Le liquide aqueux d'extraction est déféqué comme d'ordinaire par 30 g. de magnésie : on reprend alors par 20 cm^3 d'alcool absolu : il se forme des cristaux qui sont recristallisés dans l'eau. On obtient ainsi 1 g.,20 d'un produit identique au *picéoside*. Les eaux-mères sont évaporées à sec, reprises par de l'eau et hydrolysées par l'émulsine. Au bout de 4 jours, on agite à l'éther ; l'éther, évaporé à sec, fournit 0 g.,70 de cristaux pâteux, fondant au-dessous de 50°. Si l'on traite une parcelle de ce produit dissous dans l'eau par Cl^3Fe dilué, on observe une coloration violette intense ; cette réaction est donnée par le saligénol, le picéol ne fournissant qu'une teinte lilas à peine perceptible. Nous avons voulu profiter de cette réaction pour doser grossièrement le saligénol dans ce mélange.

Pour cela, on dissout 0 g.,10 de ces cristaux dans 50 cm^3 d'eau. 5 cm^3 de cette solution sont additionnés de 10 gouttes de Cl^3Fe officinal dilué à 4 p. 100 et de 5 cm^3 d'eau. On compare au colorimètre avec une solution de saligénol titrée à 1 p. 1000. Les solutions ont à peu près la même intensité de coloration ; seule diffère légèrement la teinte qui est un peu plus rosée pour la solution expérimentée. Plusieurs dosages ont donné des chiffres concordants : la teneur du mélange de cristaux en saligénol serait de 45 p. 100 environ.

Nous avons ensuite dosé le picéol dans ce mélange par la technique indiquée dans notre thèse sur l'amélanchier ; le picéol possédant une fonction cétone est précipité quantitativement par la phénylhydrazine en solution acétique. 0 g.,09 de cristaux dissous dans 80 cm^3 d'eau sont additionnés de 2 cm^3 de phénylhydrazine pure et de 1 cm^3 d'acide acétique glacial. Après chauffage au bain-marie, la solution est abandonnée dans un endroit frais ; on recueille ainsi 0 g.,16 de phénylhydrazone du picéol pure.

Le mélange des cristaux obtenus renfermerait environ 53 p. 100 de picéol et 45 p. 100 de saligénol.

ESSAI D'EXTRACTION DU SALICOSIDE. — Ainsi renseigné sur la nature des hétérosides des racines de *S. Retusa*, j'ai pensé qu'il serait possible de séparer le picéoside du salicoside,

Le mode opératoire est basé sur le principe de l'élimination du picéoside par la phénylhydrazine (v. p. 33 et 88) : 600 cm³ de solution aqueuse correspondant à 380 g. de racines sont additionnés de 0 g.,50 d'invertine et mis à l'étuve à 30° pendant 1 jour. L'hydrolyse du saccharose en sucre interverti facilite sa précipitation par la magnésie (v. *Salix Glauca*). On délaie ensuite 30 g. de magnésie dans ce liquide qui est alors porté à l'étuve à 30° en couche mince ; quand le mélange est sec, il est pulvérisé et épuisé deux fois par l'alcool à 95°. L'alcool est distillé à sec et le résidu est repris par 20 cm³ d'eau. Il se forme des cristaux que l'on essore. Le poids de ces cristaux, séchés, est de 1 g.,55. Ils ne donnent pas de coloration par SO⁴H² concentré. Ils ne renferment pas de salicoside. ($\alpha_D = -84.95$; P. F. = 195°).

C'est du *picéoside* pur.

Les eaux-mères sont amenées à 100 cm³ et portées à l'ébullition ; elles sont alors additionnées d'une solution renfermant, pour 10 cm³ d'eau, 1 cm³ de phénylhydrazine pure et 0 cm³,35 d'acide acétique ; cette quantité est largement suffisante pour précipiter tout le picéoside. On refroidit immédiatement sous un courant d'eau froide ; on amorce avec quelques cristaux de phénylhydrazone et on porte à la glacière pendant 12 heures. Le liquide est alors filtré pour éliminer la phénylhydrazone, additionné de 1 cm³ d'aldéhyde benzoïque pour enlever l'excès de phénylhydrazine et chauffé à 100°. Le liquide refroidi abandonne des cristaux de benzaldéhyde-phénylhydrazone que l'on sépare par filtration sur un filtre humide. La solution aqueuse est épuisée deux fois à l'éther pour la priver des petites quantités d'aldéhyde benzoïque restant en solution, puis évaporée à sec dans le vide ; l'extract, entièrement cristallisé, est repris par 20 cm³ d'alcool absolu ; on peut ainsi recueillir après refroidissement 0 g.,50 de cristaux blancs, se colorant en rose vif par SO⁴H² concentré, fondant à + 201° et possédant un pouvoir rotatoire de -63.97 . Par hydrolyse à l'émulsine, ils fournissent, à côté du glucose, un produit non glucidique fondant à + 83°.

Le produit ainsi obtenu est du *salicoside*.

CONCLUSIONS. — A côté du saccharose, les feuilles de *S. Retusa* L. renferment du salicoside qui a été isolé (teneur 2 g.,7 pour 100 g. de feuilles fraîches). Les racines de *Salix Retusa* L. renferment à côté du saccharose, du picéoside et du salicoside (environ 2/3 de picéoside pour 1/3 de salicoside). Ce dernier hétéroside a déjà été caractérisé dans cette espèce par HERBERGER et BROWN.

Salix serpyllifolia Scop.

Le *Salix serpyllifolia* Scop. se rencontre au Lautaret, le long du torrent ; de nombreux auteurs en font une variété du *S. retusa* ; les échantillons que j'ai rapportés ne permettent pas de confusion ; j'ai analysé des plantes absolument typiques. J'ai également rencontré sur les contreforts du Mont Viso quelques exemplaires caractéristiques de *S. serpyllifolia*.

Comme pour le *S. Retusa*, nous avons analysé les feuilles et les racines : les tiges n'existent pas, pour ainsi dire, dans cette espèce.

	Feuilles	Racines
α_1	— 1°52'	— 2°27'
α i.....	— 3°13'	— 4°27'
α e.....	+ 21'	+ 44'
SR. 1.....	0,677	0,580
SR. i.....	1,478	2,040
SR. e.....	2,70	2,890
Δ α i.....	1°21'	2°
Δ SR. i.....	0,801	1,430
I i.....	595	715
Δ α e.....	3°34'	5°11'
Δ SR. e.....	1,222	0,880
I e.....	342	170

Feuilles. — Sous l'action de l'invertine, nous avons observé la formation de 0,801 de sucre réducteur. L'indice est tout à fait voisin de celui du saccharose. A côté de 0,67 de sucre réducteur initial les feuilles de *Salix Serpyllifolia* renferment 0 g.,80 de saccharose.

L'émulsine provoque un important retour de la déviation vers la droite. Il se forme 1 g.,22 de sucre réducteur. L'indice de réduction est de 342, proche de celui du salicoside. Le liquide d'essai, après action de l'émulsine, est déféqué à l'extrait de Saturne. Le filtrat est agité à l'éther qui abandonne par évaporation des cristaux fondant au-dessous de 50°, et fournissant, sous l'action de Cl^3Fe dilué, une intense coloration violette. Ce résidu cristallin est, à notre avis, formé d'une quantité importante de saligénol souillé d'un produit liquide de nature indéterminée.

Etant donné la petite quantité de feuilles dont nous disposions, nous n'avons pu effectuer sur cette espèce que l'essai

biochimique exposé ci-dessus, sans pouvoir tenter l'extraction des glucides. Néanmoins, il est presque certain que les feuilles de *Salix Serpyllifolia* renferment du salicoside (environ 2 g. pour 100 g. de feuilles fraîches).

Racines. — Les mesures effectuées au cours de l'essai biochimique ont été fortement gênées par la présence d'une grande quantité de tanin. Aussi les indices de réduction enzymolytiques n'ont-ils pas grande signification.

L'invertine donne naissance à 1,43 de sucre réducteur. L'indice de réduction est de 715 nettement plus élevé que celui du saccharose : néanmoins nous pensons que le saccharose existe dans les racines.

L'émulsine provoque un retour important de la déviation ($5^{\circ}11'$). L'indice de réduction observé est faible (170). Le reste de l'essai biochimique est agité à l'éther. Par évaporation de la couche éthérée, on obtient des cristaux incolores fondant à 106° et ne se colorant que faiblement par Cl^3Fe dilué. Ce produit est constitué par du picéol à peu près pur (P. F. = 109°).

ESSAI D'EXTRACTION. — 500 cm^3 d'une solution aqueuse correspondant à 300 g. de racines sont déféqués par 60 cm^3 d'extract de Saturne. L'extract obtenu pèse 15 g. Il est dissous dans 20 cm^3 d'eau. La solution abandonnée au frais, se prend en une masse cristalline au bout de 2 jours. J'ai pu recueillir, après essorage, 2 g.,25 de cristaux blancs fondant à $+195^{\circ}$, dont le pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = -86^{\circ}92$. Une purification dans l'eau ou l'alcool ne change pas les constantes physiques.

Par concentration, les eaux-mères ont encore fourni 0,85 du même produit. Le rendement est donc de 1 g. p. 100 g. de racines (théorie 1 g.,40).

Le produit ainsi obtenu est bien du *picéoside*.

CONCLUSIONS. — L'essai biochimique des feuilles de *Salix Serpyllifolia* nous permet de déceler la présence du saccharose et du salicoside, nous n'avons pu retirer les 2 glucides étant donné la faible quantité de matériel recueilli.

Les racines de *S. Serpyllifolia* L. renferment du picéoside : d'après le point de fusion de l'aglycone obtenu à la fin de l'essai biochimique, je pense que le picéoside est le seul hétéroside contenu dans ces racines ; la teneur de ces organes en picéoside serait voisine de 1 g.,40.

Le *Salix Retusa* et le *Salix Serpyllifolia* ont donc une com-

position chimique voisine. Leurs feuilles renferment du salicoside, mais il faut remarquer que les racines de *Salix retusa* contiennent à côté du picéoside une forte quantité de salicoside alors que les racines de *S. Serpyllifolia* renferment seulement du picéoside.

Salix triandra L.

Cette espèce a fait l'objet d'un travail récent de M. BRIDEL et C. BÉGUIN [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, 8, 901]. Ces auteurs ont caractérisé le saccharose dans les feuilles ; ils en ont retiré de l'asparagine gauche et du rutoside ; des écorces, ils ont isolé un hétéroside qu'ils n'ont pu obtenir à l'état cristallisé, le *salidroside*. Néanmoins, ils ont étudié les propriétés physiques de ce nouveau produit qui, soumis à l'hydrolyse par l'émulsine, fournit une odeur de rose analogue à celle qu'on observe par dilacération des écorces de *S. Triandra*. Le salidroside est lévogyre (— 50°) et fournit 63,17 p. 100 de glucose par hydrolyse sulfurique. L'hydrolyse par l'émulsine permet d'extraire le produit non glucidique de dédoublement (ou salidrosol) à l'état cristallisé ; les auteurs n'ont pu poursuivre leurs recherches sur ce produit, le rendement étant très faible.

Ils n'ont pu isoler le salicoside de cette espèce. Ils ont comparé la composition glucidique des organes et nous reviendrons sur cette étude physiologique.

J'ai tenté l'analyse du salidroside. Je ne rapporterai pas ici les essais biochimiques que j'ai pu faire sur cette espèce, les résultats sont identiques à ceux observés par MM. M. BRIDEL et C. BÉGUIN.

J'ai d'abord tenté l'extraction ou la caractérisation du salicoside ; je n'y suis pas parvenu, qu'il s'agisse de feuilles ou de rameaux. Cependant, après défécation magnésienne habituelle, j'ai pu isoler 0 g.,20 de saccharose pur de 340 g. de feuilles fraîches ; le saccharose existe donc bien dans les feuilles de cette espèce ainsi que le présumaient MM. M. BRIDEL et C. BÉGUIN.

ETUDE CHIMIQUE DU SALIDROSOL. — MM. M. BRIDEL et C. BÉGUIN avaient préparé quelques milligrammes du produit de dédoublement du salicoside que nous nommerons *salidrosol* pour faciliter notre exposé ; j'ai dû préparer ce produit, mais, ainsi que les auteurs qui m'ont précédé, j'ai éprouvé de nombreuses

difficultés pour obtenir ce produit pur et, encore, n'ai-je pu en isoler que quelques décigrammes sur lesquels ont porté tous mes essais.

PRÉPARATION. — Elle est identique à celle préconisée par M. BRIDEL et C. BÉGUIN. Il faut d'abord isoler, ou plutôt, amener le salidroside à un état de pureté satisfaisant par défécation plombique et reprise de l'extrait par l'ester acétique hydraté bouillant ; il se dépose par refroidissement du salidroside impur qui est hydrolysé par l'émulsine ; la solution est épuisée à l'éther qui s'empare du salidrosol. L'éther est évaporé à sec ; l'extrait est repris par quelques centimètres cubes d'éther et le liquide est versé dans de l'éther de pétrole qui abandonne des cristaux de salidrosol. Il est possible, dans cette préparation, de remplacer la défécation plombique par une défécation magnésienne. Le salidrosol est soumis à une autre purification semblable qui n'élève pas le point de fusion.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Le produit ainsi obtenu forme des lames incolores, possédant une odeur de rose beaucoup moins fine et intense que celle observée sur le *Salix Triandra* frais. Ce fait a déjà été signalé par M. BRIDEL et C. BÉGUIN.

J'ai pu comparer les points de fusion d'un échantillon de salidrosol préparé par ces auteurs avec celui que j'ai obtenu ; ils fondent en même temps à $+ 92^{\circ}$. Le point de fusion est très net ; le produit fondu cristallise à nouveau par refroidissement ; réchauffé, il fond encore à $+ 92^{\circ}$. Le salidrosol est donc bien différent du saligénol (P. F. $+ 84^{\circ}$) et du picéol (P. F. $= + 109^{\circ}$). Ce produit est très soluble dans l'alcool et dans l'éther. L'eau le dissout également, surtout à chaud.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — La solution aqueuse se colore en bleu pâle par Cl^{Fe} dilué. Il est très soluble dans la lessive de soude diluée. Ces deux réactions indiquent la présence d'une fonction phénol libre. Le poids moléculaire est déterminé par la microméthode de RAST [*Ber. deut. chem. Ges.*, 1922, 55, 1051], avec le camphre pur comme solvant ($p = 0,0191$; $P = 0,197$; $\Delta = + 28^{\circ}$). P. M. = 138.

Le salidrosol ne renferme pas d'azote.

Le poids moléculaire calculé d'après la teneur en glucose du salidroside est de 124, la concordance est donc satisfaisante.

L'analyse élémentaire est effectuée par la microméthode de Pregl.

Produit :

4,480 CO² — 11,450 H²O = 3,045 C p. 100 = 69,71, H p. 100 = 7,60
 4,225 » — 10,805 » 2,845 » = 69,74, » = 7,53

En se basant sur le poids moléculaire trouvé plus haut, nous proposons pour le salidrosol la formule C⁸H¹⁰O² (C. p. 100 = 69,55 ; H p. 100 = 7,24 ; P. M. = 138).

CONCLUSION. — Le salidrosol, produit d'hydrolyse par l'émulsine du salidoside, fond à + 92°. Il possède une fonction phénol libre et répond à la formule C⁸H¹⁰O² ; son étude n'a pu être poussée plus loin, étant donné les faibles rendements en produit pur.

Salix arbuscula L.

Cette petite espèce est très abondante aux environs immédiats du Lautaret.

ETUDE BIOCHIMIQUE DES FEUILLES (août 1930). — Au cours de la préparation du liquide d'essai, nous avons remarqué la cristallisation de fines aiguilles qui sont recueillies. On trouvera leur étude plus loin. L'invertine provoque un important retour de la déviation ; l'indice de réduction est de 562, proche de celui du saccharose. La teneur des feuilles en saccharose serait voisine de 0,60 p. 100. L'émulsine fournit 0 g.,72 de sucre réducteur. L'indice de réduction est de 378, un peu plus élevé que celui du salicoside.

	Feuilles	Rameaux
	—	—
α ₁	— 54'	— 17'
α i.....	— 2°	— 2°
α e.....	— 6'	— 13'
SR. 1.....	1,20	6,669
SR. i.....	1,82	1,638
SR. e.....	2,54	2,420
Δ α i.....	1°6'	1°43'
Δ SR. i....	0,62	0,969
I i.....	562	566
Δ α e.....	1°54'	1°47'
Δ SR. e....	0,72	0,782
I e.....	378	438

ESSAI D'EXTRACTION. — Nous avons vu plus haut qu'il se forme lentement dans le liquide d'essai de petits cristaux que nous avons d'abord analysés. C'est un hétéroside flavonique ; il est recueilli et purifié deux fois dans l'eau bouillante ; nous avons obtenu 0,05 de produit pur pour 100 g. de feuilles. Il forme des cristaux jaunes verdâtres fondant à 207° au bloc Maquenne (bien au-dessus du rutoside (P. F. 194°).

Nous avons mesuré le temps d'apparition du produit de dédoublement suivant la technique de M. C. CHARAUX précédemment décrite (v. p. 37) ; il est de 28 *minutes environ*, ce qui ne correspond à aucun hétéroside flavonique étudié par M. C. CHARAUX (rutoside 10 minutes). L'hydrolyse est poursuivie pendant 2 h. Le tube d'hydrolyse est abandonné pendant 1 heure en lieu frais. Le produit de dédoublement non glucidique est recueilli et le sucre réducteur est dosé dans les eaux-mères. On constate que l'hétéroside primitif fournit environ 39 p. 100 d'un sucre réducteur dont le pouvoir rotatoire est voisin de $+ 55^{\circ}$. Cet ose est probablement du glucose. L'aglycone forme des cristaux jaunes fondant instantanément à $+ 361^{\circ}$ au bloc Maquenne. Ce produit charbonne lentement avant cette haute température, mais la fusion instantanée est très nette.

Nous n'avons pas nommé cet hétéroside ; nous estimons son étude trop sommaire. De plus, il est possible qu'il soit identique à un flavonolosite déjà connu. Nous avons voulu préparer une plus grande quantité de produit ; les rendements ne sont pas très élevés et il est difficile de se procurer 1 kg. de feuilles de *S. Arbuscula*, quantité nécessaire à l'obtention d'un échantillon de 0 g.,50 de ce produit.

Nous avons rapporté de nos excursions du début de juillet 1933, au Lautaret, une petite quantité de feuilles de *S. Arbuscula*. Le rendement en flavonolosite est très faible ; ceci tient à notre avis à ce que les feuilles étaient trop jeunes (la neige n'était fondue que depuis 15 jours). M. HSIEH YU a montré, dans son travail sur le *Buddleia*, que le buddléoflavonolosite s'accumule dans les feuilles au cours de la végétation puisque sa teneur passe de 2 g. en juillet à près de 7 g. en octobre.

Les feuilles de *S. Arbuscula* destinées à l'obtention de l'hétéroside flavonique qu'elles contiennent devront être cueillies de préférence à la fin de la végétation (15 septembre pour le Lautaret). Nous comptons reprendre cette étude.

ETUDE DES RAMEAUX. — Nous n'avons observé aucune cristallisation de glucoside flavonique.

L'invertine nous montre l'existence de 0 g.,90 de saccharose (indice 566). L'émulsine provoque un retour de la déviation de $1^{\circ}47'$. L'indice de réduction est de 438, très supérieur à celui du salicoside (330). De plus, il se développe une *odeur de rose* tout à fait semblable à celle du *Salix Triandra*. Notons que l'action de l'émulsine sur ce produit est rapide ; dans l'essai biochimique, une semaine suffit pour obtenir une hydrolyse totale.

ESSAI D'EXTRACTION. — Une solution aqueuse correspondant à 200 g. de petites tiges est déféquée par 20 g. de magnésie légèrement carbonatée, comme d'habitude. L'extrait obtenu est repris par 10 cm³ d'alcool absolu. On ajoute à chaud 10 cm³ d'ester acétique hydraté. On laisse refroidir. Le liquide décanté abandonne 0 g.,20 de cristaux de saveur sucrée, non réducteurs ($\alpha_D = + 63^{\circ}47$, sans mutarotation), hydrolysable rapidement par SO_4H^2 très dilué en donnant du sucre interverti, $\alpha_D = -17^{\circ}7$. Il existe donc bien du *saccharose* dans les jeunes rameaux de *S. Arbuscula*. Après diverses tentatives de cristallisation infructueuses, les liqueurs d'essai sont réunies et déféquées à la chaux. Après ce traitement, nous n'avons pu obtenir de cristaux. Le résidu est alors repris par 50 cm³ d'eau et on effectue un essai biochimique. Il n'y a pas de sucre réducteur initial, ni de saccharose ; l'émulsine provoque un important retour de la déviation et la formation de sucre réducteur. L'indice de réduction est de 485, voisin de celui obtenu plus haut. Si nous comparons les quantités d'hétéroside, on constate la disparition d'environ la moitié du produit au cours de ces opérations.

Ainsi, l'hétéroside de l'écorce de *S. Arbuscula* n'est précipité ni par l'extrait de Saturne, ni par la magnésie, ni par la chaux.

Le reste de l'essai biochimique est agité à l'éther, l'éther est évaporé ; le résidu sec est repris par 3 cm³ d'éther anhydre et versé dans 30 cm³ d'éther de pétrole. Il se forme lentement quelques mg. de cristaux incolores, longs de plusieurs cm., fondant nettement à $+ 50^{\circ}$.

ETUDE DE GROSSES TIGES. — Nous avons tenté un essai d'extraction identique sur 300 g. de grosses tiges. Nous sommes parvenus à isoler facilement du saccharose ($\alpha_D = + 65^{\circ}08$) mais il nous fut impossible de retirer l'hétéroside donnant, par hydrolyse à l'émulsine, l'odeur de rose observée.

CONCLUSIONS. — Les feuilles de *S. Arbuscula* renferment à côté d'un hétéroside flavonique peu étudié, du saccharose et un glucide hydrolysable par l'émulsine qui est peut-être du salicoside (?).

Les rameaux renferment du saccharose et un hétéroside fournissant par hydrolyse à l'émulsine une odeur de rose intense.

Cet hétéroside est-il identique à celui du *S. Triandra* ? Le point de fusion de l'aglycone (50°) est différent de celui du salidrosol ($+ 92^{\circ}$). Il est possible que les défécations employées modifient le produit ; des recherches nouvelles doivent être entreprises pour élucider ce problème difficile.

Salix repens L.

Cette espèce a fait dernièrement l'objet de très intéressantes recherches de M. N. WATTIEZ (1, 2).

Nous en avons à la même époque tenté l'étude sur des échantillons de *Salix Repens* L. var. *dunensis* rapportés par notre regretté Maître Marc BRIDEL en septembre 1930 et en avril 1931. Nous avons obtenu un hétéroside identique au saliréposide, de M. WATTIEZ. Des circonstances douloureuses m'ont par deux fois empêché de publier les résultats que j'avais pu recueillir. Aussi ne trouvera-t-on, dans cette étude, qu'un bref rapport des résultats que j'ai personnellement obtenus ; je les comparerai à ceux de M. N. WATTIEZ. L'accord entre nos résultats est parfait, sauf pour l'analyse du produit où nous avons noté quelques divergences. La priorité de la découverte de M. N. WATTIEZ ne saurait être aucunement mise en cause par ce travail.

RECHERCHES SUR LE *Salix Repens* L. Var. *Dunensis*. — Cette espèce croît dans les dunes et les endroits marécageux aux environs de Saint-Trojean (Ile d'Oléron). Les rameaux analysés ont une longueur de près de 1 m. Ils sont dressés et correspondent

(1) N. WATTIEZ. — Le saliréposide, hétéroside nouveau retiré des écorces de *Salix repens* L. (Salicacées). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 658.

(2) N. WATTIEZ. — Contribution à l'étude chimique de *Salix repens* L. (Salicacées). Le saliréposide est un éther benzoïque d'un hétéroside nouveau. *Ass. Franç. Avanc. Sc.*, 56^e session, Bruxelles, 1932, p. 446-454.

à la variété *Dunensis*. Nous donnons ici les analyses biochimiques des divers organes de cette plante, non publiées par M. N. WATTIEZ.

	Feuilles	Ecorce	Rameaux
	—	—	—
α_1	— 2°18'	— 4°37'	— 1°9'
α_i	— 3°55'	— 5°3'	— 2°13'
α_e	— 0°14'	— 3°21'	— 32'
SR. 1.....	2,56	0,490	0,99
SR. i.....	3,62	0,775	1,685
SR. e.....	4,92	1,340	2,43
$\Delta \alpha_i$	1°37'	26'	1°4'
Δ SR. i.....	1,06	0,285	0,95
I i.....	655	665	648
$\Delta \alpha_e$	3°41'	1°42'	1°41'
Δ SR. e.....	1,30	0,565	0,745
I e.....	352	330	443

Les feuilles examinées renferment un holoside hydrolysable par l'invertine, qui est probablement du saccharose (indice 655). La teneur en saccharose est très forte (1 p. 100 environ). L'émulsine provoque la formation de 1 g.,30 de sucre réducteur. Le retour de la déviation est de 3°41'. L'indice (352) est tout à fait voisin de celui du salicoside. La quantité de cet hétéroside est *considérable* dans ces feuilles (près de 2 g.,20). D'ailleurs, M. N. WATTIEZ a retiré le salicoside des feuilles de *S. Repens* (3 g.,25 pour 250 g. de feuilles). L'auteur ne précise pas si elles étaient fraîches ou sèches.

Nous avons pu également retirer le salicoside. En déféquant à la magnésie le liquide aqueux correspondant à 200 g. de feuilles fraîches selon le procédé habituel et reprenant l'extrait obtenu par l'alcool à 95°, il se dépose des cristaux de salicoside presque pur. Après avoir recueilli le salicoside, il cristallise une petite quantité de saccharose identifié facilement par son pouvoir rotatoire et son hydrolyse par l'invertine. Les feuilles renferment donc bien du *saccharose* (1 p. 100) et une quantité très forte en *salicoside* (près de 2 g.,20 p. 100).

ETUDE DES RAMEAUX. — Les rameaux sont traités à l'alcool bouillant. Après distillation de l'alcool au bain-marie, le liquide

aqueux obtenu est épuisé par l'éther. La solution aqueuse décantée abandonne des cristaux blancs de saliréposide impur, que nous étudierons plus loin. Après un long repos, les cristaux sont recueillis et le liquide surnageant sert à effectuer les essais biochimiques. Il arrive, au cours de ces essais, que le saliréposide cristallise ; on doit alors recommencer, le liquide ayant ainsi subi une diminution sensible de sa rotation lévogyre.

Examinons les chiffres obtenus : l'invertine nous indique la présence de saccharose (indice 648) en quantités un peu moins importantes que dans les feuilles (environ 0,90). De même l'émulsine provoque un retour beaucoup moins important de la déviation. L'indice est aussi plus élevé que celui du salicoside. Ainsi que l'a signalé M. WATTIEZ, l'émulsine hydrolyse le saliréposide restant en solution ; l'indice de réduction de ce principe étant beaucoup plus élevé (environ 700), l'indice observé au cours de l'essai doit être supérieur à l'indice du salicoside. On peut penser que les rameaux de *S. Repens* renferment à l'état frais environ 1 g. de salicoside.

ESSAI D'EXTRACTION. — Le liquide d'extraction des rameaux, privé du saliréposide comme nous l'avons vu, est déféqué entièrement par l'extrait de Saturne. Après élimination par SH_2 de l'excès de plomb du filtrat, le liquide incolore est évaporé en sirop, qui, placé dans un endroit frais, abandonne des cristaux que l'on essore et lave avec un peu d'alcool à 80°. On obtient ainsi 10 g. de salicoside brut pour 1700 g. de rameaux frais (théorie 17 g.). Une purification dans l'alcool à 95° fournit 8 g. de salicoside pur.

ETUDE DE L'ÉCORCE. — Nous avons opéré de façon identique.

Le liquide d'essai soumis à l'invertine nous montre que l'écorce étudiée renferme fort peu de saccharose (0 g.,25 p. 100 environ). L'indice observé sous l'action de l'émulsine est proche de celui du salicoside car nous avons laissé le ferment agir pendant très peu de temps. La teneur en salicoside est donc 2 fois plus faible que celle des feuilles (environ 1 g.).

ÉTUDE DU SALIRÉPOSIDE.

Nous avons vu au cours de l'étude des rameaux comment se dépose le saliréposide brut. Il en est de même dans le cas des écorces. Le procédé d'obtention est identique à celui employé par M. N. WATTIEZ. 1400 g. d'écorce fraîche (septembre 1930) nous ont fourni 3 g. de produit brut. Nous avons également employé des écorces récoltées en avril 1931 ; signalons que l'obtention du saliréposide est beaucoup plus pénible et les rendements sont moins bons à cette époque.

PURIFICATION. — Elle diffère de celle employée par M. N. WATTIEZ et nous la croyons plus efficace.

M. N. WATTIEZ effectue une dissolution du saliréposide brut dans l'eau bouillante : le liquide chaud est souillé de tanin qui est précipité par l'extrait de Saturne. On filtre à chaud, on élimine l'excès de plomb par SH^2 et on filtre le liquide à chaud. Par refroidissement, les cristaux se forment et le liquide se prend en une masse cristalline.

Cette unique purification n'est pas suffisante ; il reste des traces de tanin. Nous avons d'abord effectué une dissolution du produit brut dans l'eau bouillante (100 parties). On filtre après addition de noir animal et on recueille les cristaux après refroidissement. Ils sont alors dissous à chaud dans l'alcool à 60° qui, après filtration au noir, abandonne un produit très pur, qui est, néanmoins, purifié par une nouvelle cristallisation dans l'eau. La cristallisation dans l'alcool à 60° élimine *entièrement le tanin* ; elle cause d'ailleurs une diminution sensible du rendement.

8 kg.,500 d'écorce fraîche (20 juillet) nous ont fourni 14 g. de saliréposide pur.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — Le saliréposide forme des cristaux blancs, groupés en houppes, de saveur légèrement amère. Très peu soluble dans l'eau, assez soluble dans l'alcool à 95° . La solubilité est très augmentée par le chauffage (eau : 1 g.,5 p. 100 à l'ébullition). Le produit cristallise par refroidissement. Teneur en eau 4,7 p. 100 (M. WATTIEZ, 3,46). Pouvoir rotatoire dans l'acide acétique anhydre.

$$\alpha_D = -35^{\circ}44 \quad (\alpha = -50' ; p = 0,235 ; v = 20 \text{ cm}^3 ; l = 2)$$

$$(\text{anhydre}) \alpha_D = -37^{\circ}2,$$

Ces pouvoirs rotatoires sont identiques à ceux trouvés par M. N. WATTIEZ dans l'acétone ou la pyridine (hydraté $= - 35^{\circ}5$; α_D (anhydre) $= - 36^{\circ}78$).

POINT DE FUSION. — Nous n'avons pas observé sur les échantillons purs obtenus, la première fusion observée par M. WATTIEZ vers $156-157^{\circ}$; le produit fond nettement au bloc Maquenne à $+ 207^{\circ}$ (M. WATTIEZ : 206°).

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Nous avons observé les réactions décrites par M. N. WATTIEZ. Cependant les réactions suivantes n'ont pu être obtenues, même en doublant le temps de chauffage et la concentration en acide.

« Chauffer pendant 3 minutes au bain-marie 1 cg. de saliréposide avec 5 cm³ d'alcool chlorhydrique à 3 p. 100 : coloration rouge cerise stable ».

L'alcool chlorhydrique est obtenu par addition de 3 cm³ d'HCl concentré dans 100 cm³ d'alcool à 95° . L'alcool chlorhydrique à 10 p. 100 ne produit pas plus de coloration sur le produit pur même après 10 minutes d'ébullition. Il en est de même avec l'alcool contenant 3 p. 100 de gaz HCl sec. Au contraire, un produit légèrement impur (traces de tanin) donne une réaction très intense : nous pensons que l'échantillon examiné par M. N. WATTIEZ renfermait des traces de tanin, que la cristallisation dans l'alcool à 60° nous a permis d'éliminer parfaitement. Cette proportion de tanin doit être très faible puisque le pouvoir rotatoire et le point de fusion obtenus par M. N. WATTIEZ sont identiques aux nôtres.

Une réaction négative peut être envisagée, à notre avis comme un critérium de pureté.

HYDROLYSE SULFURIQUE. — Le saliréposide est chauffé pendant 3 heures avec l'acide sulfurique à 3 p. 100 au bain de Cl²Ca ; on observe une coloration verte fugace puis un précipité huileux noir. Le liquide d'hydrolyse est épuisé à l'éther qui dissout l'huile, en laissant insoluble le précipité noir résineux. L'éther, évaporé à sec, fournit des cristaux qui sont purifiés par cristallisation dans l'eau. Cristaux blancs P. F. $= 122^{\circ}$. C'est de l'acide benzoïque.

La liqueur aqueuse renferme un sucre réducteur dextrogyre, de pouvoir rotatoire voisin de $+ 54^{\circ}3$ et fournissant, par le mode habituel, de la glucosazone pure. Le saliréposide (anhydre) four-

nit 43,1 de glucose, de l'acide benzoïque et une résine. D'après la teneur en glucose, le poids moléculaire du saliréposide doit être voisin de 417. M. WATTIEZ a décrit ces phénomènes ; la teneur en glucose du saliréposide observée par lui était de 42,6, presque identique à celle que nous avons trouvée.

HYDROLYSE PAR L'ÉMULSINE. — L'émulsine hydrolyse lentement le saliréposide ; il se forme de l'acide benzoïque, du glucose et du salirépol, ainsi que l'a montré M. N. WATTIEZ. Le salirépol étant réducteur et très soluble dans l'eau, on trouve à la fin de l'hydrolyse plus de sucre réducteur exprimé en glucose que dans l'hydrolyse sulfurique. Le liquide d'hydrolyse agité à l'éther, cède à ce solvant l'acide benzoïque mais il est impossible d'éliminer le salirépol beaucoup trop soluble dans l'eau. Le dosage de sucre réducteur indiquerait une teneur en glucose de 76 p. 100 d'après nos expériences (N. WATTIEZ, 73,81).

Le salirépol, d'ailleurs, s'altère lentement en fournissant un produit noir insoluble.

HYDROLYSE PAR LES ALCALIS. — Ainsi que l'a montré M. N. WATTIEZ, le saliréposide présente de grandes analogies avec le populoside ; le populoside est un ester benzoïque du salicoside ; par saponification, on hydrolyse facilement le populoside en acide benzoïque et salicoside. Un premier essai de saponification à la potasse alcoolique nous a permis de fixer la teneur du saliréposide en acide benzoïque et, partant, son poids moléculaire.

La teneur en acide benzoïque trouvée par nous est de 30.5 p. 100 : M. N. WATTIEZ a trouvé 28.9 p. 100. Cet auteur a pu obtenir après saponification, à côté de l'acide benzoïque, l'hétéroside correspondant au saliréposide débenzoylé. M. N. WATTIEZ n'a pas donné de nom à ce produit nouveau.

Le procédé qui nous a permis d'obtenir ce produit est très voisin, mais plus simple que celui de M. N. WATTIEZ. Les rendements sont presque théoriques, 90 p. 100, alors que M. N. WATTIEZ n'obtient qu'un rendement de 39 p. 100.

4 g. de saliréposide sont dissous dans 80 cm³ de baryte saturée, on ajoute 20 cm³ d'eau et on fait bouillir à feu nu, au réfrigérant à reflux, pendant 20 minutes ; le liquide, encore tiède, est additionné de 2 gouttes de solution de phénolphtaléine et neutralisé exactement par SO⁴H² à 10 p. 100. Une pincée de CO³Ba précipité permet de ramener à la neutralité si le virage est

trop fortement dépassé. Le liquide tiède est filtré et le précipité lavé à l'eau chaude ; le filtrat et les eaux-mères réunis sont agités par 3 fois à l'éther qui s'empare de l'acide benzoïque. Le liquide aqueux est évaporé à sec dans le vide. Les solutions cristallisent et permettent d'obtenir directement 2 g.,80 de produit pur (Théorie 3 g.). Une opération effectuée sur 12 g. de saliréposide nous a fourni directement 8 g.,10 de produit pur.

SALIRÉPOSIDE DÉBENZOYLÉ. — Il forme des cristaux blancs ayant l'aspect de la caféine. Il est amer, sans odeur. Très soluble dans l'eau (plus de 2 p. 100 à 18°). Très soluble dans l'ester acétique bouillant et l'alcool bouillant. Cristallise avec 3.70 p. 100 d'eau (M. N. WATTIEZ 12.02 p. 100).

Première fusion à 114-120° (M. WATTIEZ 102° ce qui est dû à la forte teneur en eau de son produit).

Seconde fusion à 172° (M. WATTIEZ : 172°-173°).

$[\alpha]_D$ anhydre dans l'eau = — 56°84 (M. WATTIEZ $[\alpha]_D$ = — 57°29).

HYDROLYSE SULFURIQUE. — Elle donne lieu aux mêmes remarques que celle du saliréposide ; l'acide benzoïque n'est plus parmi les produits d'hydrolyse et, à côté de la résine noire insoluble, il s'est formé 59.5 p. 100 d'un sucre réducteur qui est du glucose ainsi que l'obtention de la glucosazone nous l'a montré. M. N. WATTIEZ a trouvé au cours de l'hydrolyse 59.7 p. 100 de glucose.

HYDROLYSE PAR L'ÉMULSINE. — Ici, encore, nous avons observé un excès de sucre réducteur dû à la présence du salirépol réducteur. L'hydrolyse est extrêmement rapide (moins de 24 heures) alors que l'hydrolyse du saliréposide est très lente. La déviation polarimétrique à l'arrêt de la réaction correspond bien à la teneur en glucose calculée d'après l'hydrolyse sulfurique ; la quantité de sucre réducteur dosée dans l'essai après hydrolyse par l'émulsine conduirait à admettre que 100 g. d'hétéroside fournissent 123 g. de glucose ; ceci est dû à la présence, dans la solution, du salirépol, réducteur.

PRÉPARATION DU SALIRÉPOL. — M. N. WATTIEZ n'a pu isoler ce produit que nous avons préparé à l'état pur de la façon suivante :

On pèse dans un flacon 8 g. de saliréposide débenzoylé, 0 g.,50 d'émulsine, 4 g. de levure fraîche des boulangers et 500 g. d'eau.

On place à l'étuve à 30° pendant 36 heures. Le liquide est alors additionné de 2 cm³ d'extrait de Saturne pur. Le précipité formé est essoré et le liquide est débarrassé du gros excès de plomb par un courant de SH². Le liquide est évaporé à sec dans le vide. L'extrait obtenu est repris par l'éther, additionné de SO⁴Na² anhydre et de noir animal, puis filtré ; par évaporation spontanée, il se forme 2 g.,78 de cristaux rosés fondant à + 106° ; c'est le *salirépol*.

Ce mode opératoire nous a été imposé par la solubilité très grande du *salirépol* dans l'eau ce qui ne permet pas de l'extraire par l'éther ; il faut éliminer le glucose par fermentation.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DU SALIRÉPOL. — Le *salirépol* forme des aiguilles légèrement rosées qui noircissent lentement à l'air. Il fond à + 106° ; il est très soluble dans l'eau, dans l'éther et l'alcool.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES. — Il fournit une coloration bleue peu intense et peu stable avec Cl³Fe dilué ; avec le réactif de LIEBERMANN, coloration brune du liquide et formation d'une résine noire. Il est très soluble dans la soude diluée ; la solution brunit à l'air par oxydation en quelques minutes. Nous avons dosé le nombre de groupements OH contenus dans cette molécule par la méthode de TZEREVETINOFF. Deux analyses nous ont fourni 2.7 et 3.2 ce qui nous permet de penser qu'il existe 3 oxydriles libres dans le *salirépol*. Le *salirépol* ne renferme pas de fonction OCH₃.

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE DU SALIRÉPOSIDE ET DE SES DÉRIVÉS.

Nous avons apporté le plus grand soin à ces déterminations ; le *saliréposide* et son dérivé débenzoylé renferment de l'eau d'hydratation ; ils en sont privés par dessiccation dans le vide à 60°. Les analyses sont effectuées, soit sur des produits anhydres, soit sur des produits à teneur en eau connue ; la macrométhode classique de LIEBIG et la microméthode de PREGL sont concurremment employées ; les résultats sont très voisins et figurent dans le tableau suivant ; les pourcentages correspondent au produit anhydre. Nous avons également inscrit les résultats obtenus par M. WATTIEZ,

	Saliréposide		Débenzoylsaliréposide		Salirépol
	Wattiez	Rabaté	Wattiez	Rabaté	Rabaté
C p. 100.....	58,61 58,20	58,49 59,2 60,1 60,1	52,63	51,84 51,88 51,77	59,9 59,7 60,5 60,6 60,2
H p. 100	5,57 5,54	5,61 5,56 5,64 5,62	6,50	6,02 6,48 6,12	6,14 6,13 6,03 6,23 5,92
Poids moléculaire trouvé par la teneur en acide benzoïque	408	412	304		136
— par la teneur en glucose	422	417 406		301 302	140
Teneur en glucose trouvé.....	42,6	43,1	59,5	59,7	
Calculé.....	44,3			59,6	

Calculé pour
 $C^{20}H^{22}O^9$

C p. 100 = 59,2

H p. 100 = 5,42

Calculé pour
 $C^{13}H^{18}O^8$

51,8

5,98

Calculé pour
 $C^7H^8O^3$

60,0

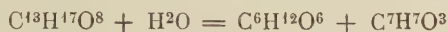
5,7

Nous avons employé la méthode ébullioscopique de PREGL pour déterminer les poids moléculaires du saliréposide débenzoylé et du salirépol ; alors que, dans le cas du salirépol, nous avons observé des résultats concordants et exacts, il n'en est pas de même pour l'hétéroside qui nous fournit des résultats beaucoup trop faibles ; ceci tient probablement à la présence d'un ose dans la molécule et l'on sait que la cryoscopie ou l'ébullioscopie des sucres ne suivent pas exactement les lois de RAOULT.

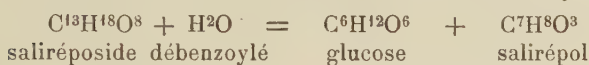
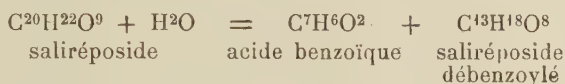
La formule proposée par M. WATTIEZ pour le saliréposide est $C^{20}H^{22}O^{10}$ (C p. 100 = 56.8 ; H p. 100 = 5.2) et la formule proposée pour le saliréposide débenzoylé est $C^{13}H^{17}O^8$ (C. p. 100 = 53.1 ; H. p. 100 = 5.64.

Il faut remarquer que la formule de ce dérivé ne concorde pas avec celle du saliréposide calculée en additionnant un reste benzoïque et en retranchant une molécule d'eau, ce qui fait

$C^{20}H^{21}O^9$. L'équation d'hydrolyse du débenzoïlsaliréposide serait d'après M. N. WATTIEZ :



Or la formule $C^7H^7O^3$ (comme la formule $C^{13}H^{17}O^8$) est critiquable : en effet, le nombre d'atomes d'hydrogène dans une molécule ne renfermant pas d'azote, sauf des exceptions extrêmement rares, est représenté par un nombre pair. En se basant sur nos analyses nous proposons les équations suivantes :



Ces chiffres concordent avec nos déterminations et les formules proposées par M. WATTIEZ doivent être rejetées.

CONSTITUTION CHIMIQUE DU SALIRÉPOL. — Pouvons nous établir maintenant une formule développée du Salirépol ?

1. Le salirépol possède au moins une fonction phénol, puisqu'il est très soluble dans la soude diluée et que le perchlorure de fer fournit une coloration bleue.

2. Le saliréposide fournit également une coloration avec le perchlorure de fer ; il y a donc au moins 2 fonctions phénol.

3. Le saliréposide, son dérivé benzoïlé et le salirépol se résinifient sous l'influence de l'acide dilué à chaud ; ceci est à rapprocher de l'action des acides sur le salicoside ; elle fournit une résine appelée salirétine.

Il existe, dans le salirépol, 3 oxydrides libres ; nous pensons que le troisième oxydride est un reste alcoolique ; $CH^2 OH$, ce qui rapproche la formule du salirépol de celle du saligénol.

4. Le glucose est lié au salirépol par un groupement phénolique ; nous savons que le salirépol s'oxyde rapidement à l'air en milieu alcalin ; de plus il est fortement réducteur ; dans le saliréposide débenzoïlé, un $—OH$ phénolique étant uni au glucose, il ne reste plus que la fonction $CH^2 OH$ et un autre groupement phénolique ; le saliréposide ne s'oxyde pas en présence des alcalis même à chaud ; c'est son mode d'obtention ; il n'est pas réducteur : Il est en cela analogue au saligénol. De plus, l'hydrolyse très rapide du saliréposide débenzoïlé par l'émulsine nous permet de supposer que le glucose n'est pas lié à un groupement

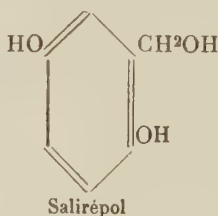
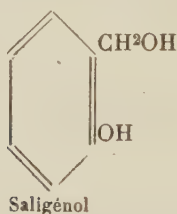
alcool primaire, mais à une fonction phénolique : nous avons montré les différences de vitesse d'hydrolyse qui existent entre les hétérosides phénoliques et alcooliques (v. p. 161).

Le saliréposide serait un oxypopuloside. Le saliréposide débzoylé serait un oxysalicoside. Le salirépol serait un oxysaligénol.

ESSAI DE SYNTHÈSE. — Il est très difficile d'étudier le salirépol ; en effet, il s'oxyde intensément en milieu alcalin ; il se polymérise en milieu acide. Aussi est-il très pénible de déterminer la position des groupes OH dans cette molécule. Nous avons recherché si, dans la littérature de chimie organique, ces produits ont été préparés ; aucun *diphénol alcool* n'a été obtenu. Il existe seulement des dérivés méthoxylés (alcool vanillique, vëtratrique, etc...).

Plusieurs essais de synthèse ont été effectués sans pouvoir arriver à la préparation de ce produit. Je ne les rapporterai pas ici. Le nombre d'isomères possible est très grand.

Cependant, les déterminations spectrophotométriques effectuées au laboratoire de Madame RAMART LUCAS permettent d'assigner au salirépol la formule suivante :



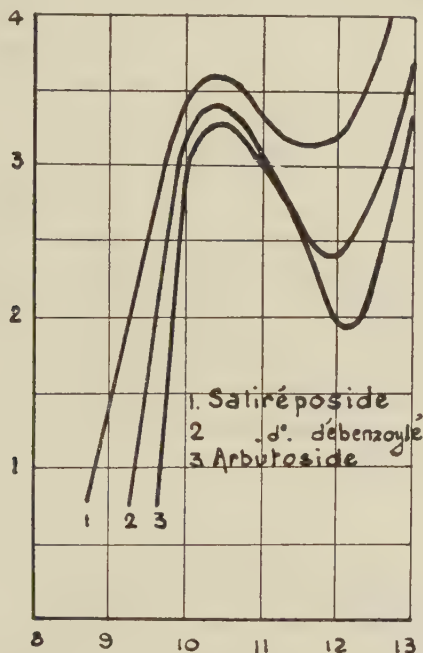
Les deux OH phénoliques sont en position *para* l'un par rapport à l'autre ; le salirépol serait un dérivé de l'hydroquinone. Les spectres du saliréposide débzoylé et de l'arbutoside sont très voisins l'un de l'autre ainsi que le montre l'examen des courbes d'absorption ; plusieurs raisons d'ordre chimique plaident pour cette formule.

1° Le salirépol est très réducteur comme l'hydroquinone (ou le pyrocatéchol, orthodiphénol).

2° Le salirépol s'oxyde très facilement comme l'hydroquinone ou le pyrocatéchol.

3° La coloration produite par le perchlorure de fer est peu intense et peu stable : il y a probablement oxydation et formation d'une quinone ; le pyrocatéchol, au contraire, fournirait une coloration intense et stable.

La molécule de glucose doit être fixée sur l'oxydrile voisin de la fonction alcool : en effet le salicylglucoside β , dans lequel la fonction OH voisine de CH^2OH est libre, est très réducteur vis-à-vis de la liqueur de FEHLING (1 g. réduit comme 0,34 de glucose). Au contraire, l'arbutoside, comme le saliréposide débénzoylé, n'est pas réducteur : la fonction OH para est libre.



Il est bien certain que seule la synthèse de ce produit peut nous fournir une certitude, mais nous pensons, cependant, que les expériences que nous venons de citer plaident pour l'adoption de cette formule.

CONCLUSIONS. — Les feuilles et les rameaux de *Salix Repens* renferment du salicoside, déjà découvert par M. N. WATTIEZ. Nous avons déterminé la teneur de ces organes en salicoside (2 g., 20 p. 100 g. de feuilles fraîches et une teneur moitié moindre pour les rameaux et les écorces). Nous avons isolé le saccharose des feuilles.

Les feuilles ne renferment pas de saliréposide ; aussi ne doit-on pas voir, comme le pense M. N. WATTIEZ, dans le saliréposide, le produit générateur du Noir des Saules. Ce phénomène

est dû au salicoside comme nous le montrerons plus loin (v. p. 202).

Les propriétés physiques et chimiques du saliréposide observées par nous sont identiques à celles données par M. N. WATTIEZ. Cependant la réaction de l'alcool chlorhydrique n'a pu être obtenue sur le produit pur. La saponification du saliréposide par les alcalis a été améliorée et les rendements en saliréposide débenzoylé atteignant 90 p. 100 (M. N. WATTIEZ 39 p. 100). Les formules de constitution établies par M. N. WATTIEZ sont à rejeter : nous proposons pour le saliréposide cristallisé la formule $C^{20}H^{22}O^9$, li-O ; pour son dérivé débenzoylé, la formule $C^{13}H^{18}O^8$, $1/2 H_2O$; pour le salirépol la formule $C^7H^8O^3$.

L'étude du salirépol a été entreprise ; ce produit renferme une fonction alcoolique et deux fonctions phénoliques. Le glucose est uni à une fonction phénolique ; les positions relatives de ces 3 fonctions ne sont pas définitivement fixées, mais les comportements identiques du salirépol et du saligénol envers les acides dilués bouillants nous amènent à leur donner des formules analogues. Le salirépol serait un oxysaligénol.

Les déterminations spectrophotométriques nous permettent de penser que les 2 hydroxyles phénoliques sont en position *para* l'un par rapport à l'autre.

POPULUS.

En 1929, M. BRIDEL [*Journ. Pharm. et Chim* (7) 19, 429 et 20, 14] soumit à l'analyse biochimique les rameaux et les écorces de divers *Populus*. Les résultats obtenus permettent de penser à la présence dans quelques espèces d'hétérosides différents du salicoside et du populoside. Ces 2 hétérosides ont été mis en évidence par certains auteurs. Leur présence a été niée par d'autres. Aussi, dans les pages qui vont suivre, nous avons succinctement examiné les *Populus nigra* et *tremula* dont nous avons pu recueillir quelques échantillons typiques.

Populus nigra.

L'analyse des bourgeons a été effectuée : les résultats jusqu'ici obtenus ne sont pas assez importants pour que nous puissions les rapporter. Nous en avons retiré du chrysol mais d'autres produits intéressants existent encore dans les bourgeons.

Les rameaux de *Populus nigra* (100 g.), âgés de 1 an, sont récoltés dans l'île Charlemagne (Orléans), fin mars 1933. Ils sont

épuisés par l'alcool bouillant selon la technique habituelle. L'extrait obtenu est repris par 100 cm³ d'eau. Après un repos d'une heure, il est passé sur un coton. Au bout de 24 heures, il se dépose des cristaux jaunes que l'on recueille. Le produit est soluble dans l'eau bouillante, très soluble dans l'éther à froid. On le purifie facilement par une cristallisation dans l'acide acétique au 1/2. Il se forme des cristaux jaune d'or que l'on recueille et lave avec un peu d'éther. Ils fondent instantanément à + 292°, sont très solubles dans la soude diluée qu'ils colorent en jaune. Une solution alcoolique fournit avec une liqueur très diluée de Cl³Fe une intense coloration vert noirâtre. Le chrysol découvert dans les bourgeons de *Populus nigra* fond à 275° et fournit une coloration violette avec Cl³Fe dilué. Le tectochrysol qui accompagne le chrysol, fond à une température beaucoup plus basse. Le produit ainsi obtenu est probablement un flavonol. Il est différent du chrysol et du tectochrysol rencontrés dans les bourgeons de cette espèce. Son étude sera reprise ultérieurement.

La solution aqueuse privée de ce flavonol est alors soumise à l'essai biochimique ordinaire :

α_1	+ 48'	SR. 1...	0,251	$\Delta \alpha i$	1°41'	$\Delta \alpha e$	32'
αi	— 53'	SR. i...	1,258	$\Delta SR. i$..	1,007	$\Delta SR. e$..	0,190
αe	— 21'	SR. e...	1,448	Ii.....	588	Ie.....	352

L'action de l'invertine nous permet de penser que ces rameaux renferment 1 g. p. 100 de saccharose, l'indice de réduction étant de 588.

L'émulsine ne provoque qu'un faible retour de la déviation vers la droite ; l'indice obtenu est de 352 très différent de celui observé par M. BRIDEL (168). Cet auteur a signalé l'action lente de l'émulsine (1 mois) ; notre expérience a été poursuivie pendant plus d'un mois. La quantité de sucre réducteur formée par le ferment est aussi beaucoup plus faible (0 g.,19 au lieu de 0 g.,60).

A notre avis, ces divergences peuvent tenir à l'époque différente de la récolte. M. BRIDEL a prélevé les rameaux analysés le 14 juin alors qu'ils sont en pleine végétation ; les rameaux analysés par nous sont récoltés à la fin de mars ; les bourgeons ne sont pas encore gonflés.

Une étude comparative des variations des glucides serait donc fort intéressante.

ESSAI D'EXTRACTION. — L'indice obtenu dans cet essai se rapproche beaucoup de celui du salicoside ; nous en avons tenté l'extraction par les procédés habituels.

90 g. d'écorce fraîche de rameaux de 2 ans sont épuisés par l'alcool bouillant, puis déféqués à la magnésie. L'extrait obtenu, repris par l'alcool absolu abandonne 0 g.,80 de *saccharose* dont la présence dans cette espèce est ainsi confirmée. Les eaux-mères sont privées du saccharose qu'elles contiennent encore par fermentation à la levure haute. La solution, évaporée à sec, est reprise par l'alcool absolu ; il se forme 0 g.,10 de cristaux blancs, de saveur amère, se colorant en rouge par SO_4H^2 concentré, fondant à $+ 199^\circ$, ayant un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = - 61^\circ,12$; hydrolysables par l'émulsine en fournissant du saligénol (P. F. = $+ 84^\circ$).

C'est du *salicoside* déjà découvert dans cette écorce par HERBERGER bien que BRACONNOT n'ait pu l'y caractériser.

Les eaux-mères alcooliques sont distillées à sec, reprises par 10 cm³ d'eau et agitées à l'éther ; au bout de quelques temps, il apparaît une petite quantité de cristaux incolores de *populoside*.

Un autre essai effectué sur 80 g. d'écorce de 5 à 6 ans, selon le même mode opératoire permet d'isoler 0 g.,30 de *salicoside*. Les eaux-mères évaporées à sec et reprises par l'eau abandonnent 0 g.,05 de cristaux incolores de *populoside* qui sont purifiés par une cristallisation dans l'eau bouillante, leur point de fusion instantané est alors de $+ 184^\circ$; ils fournissent une intense odeur de benzoate d'éthyle quand on les humecte de potasse alcoolique. La défécation magnésienne nous permet, ici encore, d'isoler le *populoside* : cet hétéroside n'a pas été signalé jusqu'ici dans les écorces de *Populus Nigra*. PICCARD pense à la présence de cet hétéroside dans les bourgeons de *Populus nigra* mais cet auteur ne l'a pas isolé.

Les eaux-mères privées de *populoside* sont soumises à une hydrolyse par l'émulsine, ce qui nous permet de calculer, pour les écorces sèches analysées, une teneur de 1 g.,20 de *salicoside*. Le reste de l'essai biochimique agité à l'éther, fournit des cristaux de saligénol fondant à $+ 82^\circ$ - 84° .

Après défécation magnésienne, le *salicoside* est le seul glucide hydrolysable par l'émulsine, dans ces écorces.

CONCLUSION. — Nos recherches nous permettent d'affirmer, dans les écorces analysées, la présence de saccharose (1 g. p. 100) et de petites quantités de *salicoside* et de *populoside*. Nous avons pu isoler également des rameaux, un flavonol dont l'étude est poursuivie.

Populus tremula L.

J'ai récolté les feuilles et les rameaux de cette espèce en août 1932 dans les environs d'Orléans. Le matériel est desséché par un séjour de 48 heures dans un grenier, puis, ensuite, au soleil. Les résultats des essais biochimiques sont ramenés à 100 g. de produit sec.

	Feuilles	Ecorces
α_1	— 12°13'	— 12°50'
α i.....	— 13°54'	— 13°50'
α e.....	— 10°54'	— 12°6'
SR. i.....	2 g.,24	2 g.,64
SR. i.....	3 g.,20	3 g.,22
SR. e.....	3 g.,77	3 g.,69
$\Delta \alpha$ i.....	1°44'	1°
Δ SR. i....	0,96	0,58
I i.....	572	580
$\Delta \alpha$ e.....	3°	1°44'
Δ SR. e....	0,57	0,47
I e.....	190	270

Ces essais sont difficiles à effectuer : en effet il existe dans les feuilles et les rameaux de *Populus Tremula* une forte proportion d'un produit lévogyre, précipitable en jaune d'or par l'extrait de Saturne ou la magnésie. Ce produit est très gênant car il précipite les ferments (surtout l'émulsine) ; de plus, il n'est éliminé de la solution d'essai que par l'addition d'une quantité considérable d'extrait de Saturne.

Notre solution d'essai n'est pas entièrement déféquée, aussi avons-nous observé de fortes déviations lévogyres ; l'action des ferments est très lente ; l'émulsine poursuit son action pendant plus d'un mois.

ETUDE DES FEUILLES. — L'action de l'invertine sur les feuilles nous prouve l'existence dans ces organes de 0 g.,90 de saccharose, l'indice étant de 572. L'émulsine provoque un retour de la déviation important (3°). L'indice est de 190, très éloigné de celui du salicoside. De plus, le reste de l'essai biochimique agité à l'éther après défécation permet d'obtenir des cristaux fondant au-dessous de 70° (saligénol 84°). Le produit renferme certainement une forte proportion de saligénol ; peut-être existe-il un autre hétéroside hydrolysable par l'émulsine. Cependant il est possible que l'indice observé soit causé, pour une grande partie,

par la précipitation du populoside qui existe dans les feuilles ; nous avons constaté la formation lente d'une huile au cours de l'essai biochimique ; elle présente une réaction d'ester benzoïque très intense. La précipitation du populoside au cours de l'essai contribue à augmenter le retour de la déviation dû à l'émulsine et, partant, diminue l'indice.

Je pense que ce phénomène se produit dans la plupart des essais biochimiques des *Populus* et des *Salix* renfermant du populoside et que les faibles indices observés par M. BRIDEL résultent de ce fait. De même, nous avons observé au cours de l'étude des écorces de *Salix pentandra* un indice de réduction enzymolytique très faible. Ces organes renferment du populoside et il est possible que le faible indice observé soit dû à la précipitation de cet hétéroside.

ESSAI D'EXTRACTION. — Un premier essai effectué sur 350 g. de feuilles sèches est conduit selon le mode habituel, par défécation plombique ; nous avons effectué des essais de précipitations fractionnées pour tenter d'obtenir le principe lévogyre précipitable à l'extrait de Saturne ; les précipités jaune d'or décomposés par l'hydrogène sulfuré nous fournissent, par évaporation à sec, des fractions qui sont reprises par l'acétone anhydre. Ces solutions acétoniques sont évaporées dans le vide sulfurique. On obtient ainsi des poudres brunâtres, non hygroscopiques, très solubles dans l'eau. Leur pouvoir rotatoire est voisin de -40° ; mais il n'est pas le même pour les différentes fractions ; les produits obtenus ne sont pas purs ; néanmoins ils fournissent avec Cl^3Fe dilué une coloration verte intense qui vire au brun par CO^2Na^2 au 1/10 ou par le bicarbonate de sodium. Ces produits sont réducteurs et fournissent par hydrolyse un sucre réducteur que je n'ai pu identifier : la solution aqueuse précipite une solution aqueuse d'émulsine.

Ces produits nous font penser aux tanins et présentent une ressemblance très grande avec le buddléoside étudié, dans notre laboratoire, par M. HSIEH YU. [v. p. 19] : leur étude et leur purification sont difficiles et je n'ai pu en retirer de produit défini.

Les solutions aqueuses entièrement déféquées au plomb sont alors saturées d'hydrogène sulfuré, filtrées et évaporées à sec. L'extrait est cristallisé. Les cristaux sont essorés (Poids : 3 g.) et purifiés dans l'alcool à 95° : c'est du *salicoside* déjà rencontré dans les feuilles et les écorces de cet arbre par BRACONNOT.

Les eaux-mères, privées de la plus grande partie du salicoside, sont dissoutes dans l'eau et agitées à l'éther. Par repos en lieu frais, il se forme 0 g.,20 de cristaux blancs qui sont purifiés par une cristallisation dans l'eau ; c'est du *populoside*, signalé dans cette espèce.

ce par de nombreux auteurs BRACONNOT [l. c. p. 11], HERBERGER [l. c. p. 11], JOWETT et POTTER [l. c. p. 102].

Les eaux-mères hydrolysées par l'émulsine fournissent des cristaux de saligénol impur fondant au-dessous de 70° : il est probable qu'il existe un autre hétéroside hydrolysable par l'émulsine dans les feuilles.

DÉFÉCATION MAGNÉSIENNE. — Un autre essai est conduit par défécation à la magnésie anhydre d'une solution correspondant à 70 g. de feuilles sèches. L'extrait obtenu après évaporation de l'alcool est cristallisé. Il est repris par 70 cm³ d'eau bouillante, additionné de noir animal et filtré bouillant. Par refroidissement une abondante cristallisation a lieu. Les cristaux sont recueillis, lavés à l'eau à plusieurs reprises et séchés dans le vide : ils fondent à + 184° au bloc MAQUENNE et pèsent 0 g.,70. C'est du *Populoside* pur. Les eaux-mères abandonnent encore 0 g.,45 de cristaux de populoside par concentration dans le vide à 15 cm³. Par cette méthode j'ai pu retirer très facilement 1 g.,60 de populoside pour 100 g. de feuilles sèches alors que par défécation plombique je n'ai pu retirer qu'à grand peine 0 g.,10 p. 100. Le salicoside s'extrait facilement de la solution privée de populoside. Le rendement est légèrement supérieur à celui de la défécation plombique. De plus, l'extrait magnésien est entièrement privé des produits si difficilement précipitables par le plomb.

ETUDE DES ÉCORCES. — Les écorces renferment probablement 0 g.,55 de saccharose, l'indice de réduction enzymolytique étant de 580.

Au cours de l'action de l'émulsine, il se forme un précipité huileux brun ; c'est encore du populoside, mais la quantité observée ici est beaucoup plus faible que dans l'étude des feuilles ; l'indice de réduction enzymolytique est de 270, beaucoup plus rapproché de celui du salicoside (324) ; le reste de l'essai biochimique est déféqué et le filtrat épuisé à l'éther permet d'obtenir des cristaux de saligénol presque pur (P. F. 81° au lieu de + 84°) : dans les écorces de *Populus Tremula*, le salicoside est le seul hétéroside hydrolysable par l'émulsine :

M. BRIDEL a observé au cours de l'essai biochimique des écorces de cette espèce un retour de 2°9', l'indice de réduction étant de 283, tout à fait voisin de celui que nous avons mesuré. Il est entaché probablement de la même erreur, dûe à la précipitation du populoside.

ESSAI D'EXTRACTION. — Nous avons déféqué les écorces de *P. tremula* par la chaux selon le mode opératoire habituel ; de

300 g. d'écorce sèche nous avons extrait 2 g. de salicoside pur et 0 g.,10 de populoside par une suite de traitements analogues à celui employé pour les feuilles. HERBERGER et BRACONNOT ont déjà isolé ces 2 hétérosides de ces écorces ; leur présence est une fois de plus confirmée.

CONCLUSION. — Ainsi que de nombreux auteurs l'ont déjà signalé, les feuilles et les écorces de *Populus Tremula* renferment du *salicoside* et du *populoside*. Nous y avons décelé la présence du saccharose. Les indices de réduction enzymolytique observés au cours de l'hydrolyse par l'émulsine sont entachés d'erreur par suite de la précipitation lente du populoside et par la présence, dans les feuilles, d'un ou plusieurs glucides semblables aux tanins que nous n'avons pu isoler à l'état pur.

TABLEAU RÉCAPITULATIF.

Les chiffres qui figurent dans ce tableau indiquent la teneur approchée pour 100 g. d'organe frais.

Salix :	Feuilles	Ecorces	Rameaux	Observations
Daphnoïdes	Saccharose 0,6 Salicoside 0,5 Daphnêflavonolono- side 0,8	Glucide jaune	Saccharose 0,2 Salicoside 2 <i>Populoside</i>	Le glucide jaune de l'écor- ce ressemble aux tanins et n'a pu être obtenu à l'état pur.
Pentandra	Saccharose 0,4 Salicoside 0,2	Salicoside 0,8	Salicoside 0,6 <i>Populoside</i>	Il existe probablement un autre glucide.
Incana	Saccharose 0,4 Salicoside 1	Saccharose Salicoside	Salicoside 1 <i>Populoside</i>	
Caesia	Saccharose 0,5 Salicoside 0,6	Saccharose 1,5 Salicoside 0,6	Saccharose Salicoside 1	
Hastata	Salicoside ?		Saccharose 4,5 Salicoside 2	Il existe probablement dans les tiges une petite quantité d'un hétéroside différent du salicoside.
Nigra Marsh			Saccharose 1,7 Salicoside 0,5	
Helvetica (Rameaux secs)			Salicoside 1,2 Saccharose 0,7	

TABLEAU RÉCAPITULATIF (suite).

Les chiffres qui figurent dans ce tableau indiquent la teneur approchée pour 100 g. d'organe frais.

Salix :	Feuilles	Ecorces	Rameaux	Observations
Herbacea				
Purpurea	Saccharose 0,3 Salicoside 2,25 <i>Populoside</i> Flavopurposide	Saccharose 1,10 Salicoside 2 p. 100 Salipurposide 4 p. 100 (sec) Isosalipurposide 2 p. 100	Saccharose 1,7 Salicoside 1,0 Saccharose 0,7 Salicoside 2,9 Salipurposide Populoside	
Nigricans	Salicoside 1 Saccharose 4,50 Salinigriflavanol- side 0,3	Picéoside 2,5 Saccharose 0	Picéoside 1,5 Salicoside Saccharose 4	La teneur des rameaux en salicoside est d'autant plus faible que la tige est plus âgée. La teneur en salicoside des rameaux est très faible. Il existe probablement un hétéroside fournissant une odeur de rose par hydrolyse fermentaire.
Glauca	Salicoside 0,7 Saccharose 0,5	Picéoside 3 Saccharose 2	Picéoside 1,60 Salicoside Saccharose 1,1	
Phylicifolia	Flavonoside ? Saccharose 1,3 Salicoside ?		Saccharose 0,7 Picéoside 0,9	

TABLEAU RÉCAPITULATIF (suite).

Les chiffres qui figurent dans ce tableau indiquent la teneur approchée pour 100 g. d'organe frais.

Salix :	Feuilles	Ecorces	Rameaux	Observations
Grandifolia	Salicoside ?	Saccharose ? Picéoside 0,9 (sec)		La quantité de salicoside existant dans ces écorces est très faible.
Discolor		Saccharose Picéoside 2,5 Salicoside		
Cinerea		Saccharose 1,1 Picéoside 2 Salicoside		La quantité de salicoside existant dans ces écorces est très faible.
Reticulata	Saccharose 0,8 Salicoside 0,4		(Racines) Saccharose 1,50 Picéoside 2,6	
Retusa	Saccharose 1,1 Salicoside		(Racines) Saccharose 1,6 Picéoside 1,2 Salicoside 0,6	La teneur en hétéroside des racines est de 1/3 de salicoside et 2/3 de picéoside.
Serpyllifolia	Saccharose 0,8 Salicoside 2		(Racines) Saccharose 1,3 Picéoside 1,4	

RÉPARTITION DE QUELQUES HÉTÉROSIDES CHEZ LES SALICACÉES.

Le travail d'ensemble que j'ai effectué sur les Salicacées m'a permis d'isoler de nombreux produits nouveaux ; la composition glucidique de ces espèces apparaissait comme fort simple. Examinons brièvement les hétérosides rencontrés dans cette famille.

Salicoside. — Le salicoside existe dans la plupart des Salicacées, surtout dans les feuilles. Les espèces qui renferment cet hétéroside dans les écorces âgées seul ou accompagné d'autres hétérosides sont les *Salix pentandra*, *daphnoïdes*, *incana*, *purpurea*, *hastata*, *repens*, *caesia*, *helvetica*, *herbacea*, *nigra* et les *Populus nigra* et *tremula*.

La plus grande partie des espèces analysées renferme cet hétéroside ; la présence de salicoside semble générale chez les Salicacées (sauf *S. Triandra*, *arbuscula* pour lesquels nous n'avons pu le mettre en évidence). Le salicoside n'a jamais été retrouvé dans une famille différente des Salicacées. Est-ce à dire que le salicoside soit spécifique des Salicacées ? Je ne le crois pas ; en effet, beaucoup d'hétérosides que l'on croyait spécifiques d'une famille ou d'une espèce ont été retirés de plantes parfois très éloignées ; de plus, on rencontre chez les Salicacées des hétérosides différents du salicoside qui ont été isolés dans d'autres familles. Ainsi, le picéoside que nous avons caractérisé avec sûreté dans neuf écorces de *Salicacées* existe dans *Picea excelsa* (Conifères) et dans *Amelanchier vulgaris* (Rosacées) ; le salipurposide a des rapports très étroits avec le naringoside des Aurantiées, avec le phloridzoside des Rosacées et de *Kalmia latifolia* (Ericacées) ; le rutoside de *Salix Triandra* existe dans 17 familles différentes, etc...

Aussi sommes-nous persuadés, qu'un jour, le salicoside sera extrait d'une plante différente des Salicacées.

Néanmoins la présence du salicoside dans la plupart des *Salicacées* donne une grande homogénéité chimique à cette famille.

Picéoside. — Nous avons isolé le picéoside à l'état pur de neuf espèces du genre *Salix* : *S. cinerea*, *nigricans*, *retusa*, *serpyllifolia*, *grandifolia*, *glauca*, *reticulata*, *phylicifolia*, et d'une écorce de saule noir (*Salix discolor*, Mühl),

Le picéoside avait déjà été extrait sous les noms de salinigrine et de salicinéréine ainsi que nous l'avons démontré.

Il est à noter que le picéoside n'a jamais été rencontré dans les feuilles ; elles contiennent du salicoside ; le picéoside existe dans les rameaux ou les racines et surtout dans les écorces un peu âgées. Il se rencontre soit seul (écorces de *S. nigricans*, *serpyllifolia*, *grandifolia*, *reticulata*, *glauca*), mais il est parfois accompagné dans les écorces âgées de salicoside en quantités faibles (*S. cinerea* et *discolor*). Dans les racines de *S. retusa*, il existe $\frac{1}{3}$ de salicoside et $\frac{2}{3}$ de picéoside. D'ailleurs, ces différences sont facilement explicables si nous étudions une des espèces les plus typiques à ce point de vue, le *Salix nigricans* (v. p. 85).

Les feuilles fraîches de *S. nigricans* renferment, à côté d'un flavonolosite, une quantité importante de salicoside (1 g.) ; aucun autre hétéroside voisin ne l'accompagne ; les pétioles renferment une quantité identique de salicoside. Les rameaux très jeunes (2 mois) ne renferment plus que 0 g.,31 de salicoside. Dans l'écorce de rameaux de un an, la quantité de glucides hydrolysables par l'émulsine est d'environ 2 g.,50, mais la composition chimique en est changée ; ainsi que nous l'avons montré, ces écorces renferment seulement 10 p. 100 de salicoside accompagné de 90 p. 100 de picéoside. Dans les écorces de 2 à 3 ans la teneur en salicoside est encore plus faible et pour les écorces âgées, il n'existe plus de salicoside mais 1 g.,60 de picéoside par 100 g.

Le pyrocatéchol existe dans les écorces de *Salix Nigricans*. Il me paraît difficile d'établir un rapport physiologique entre le picéoside et ce diphénol.

L'examen des feuilles et des écorces de *S. retusa*, *serpyllifolia*, *reticulata*, *grandifolia* et *glauca* nous a montré une similitude frappante avec le cas typique du *S. nigricans*, étudié plus haut.

Les feuilles de ces espèces renferment du salicoside qui est remplacé dans les écorces par du picéoside sans que nous puissions dire quels phénomènes biologiques président à leur formation ou à leurs transformations.

Populoside ; Saliréposide. — Le populoside est un dérivé benzoylé du salicoside. Le groupe benzoyl est fixé sur le glucose puisque le populoside peut être oxydé en benzoyl hélicoside, glucoside benzoylé de l'aldéhyde salicylique. De nombreuses synthèses ont confirmé cette manière de voir. Il est probable que

le saliréposide est également un dérivé benzoylé sur une fonction alcoolique du glucose.

Il est remarquable qu'il existe chez les Salicacées, deux produits aussi voisins ; mais il est étonnant que le *S. repens* contienne du salicoside à côté du saliréposide, et non pas le dérivé débenzoylé du saliréposide. Nous ne pouvons que constater ces faits curieux sans pouvoir les interpréter.

Il faut noter que la réaction des esters benzoïques que nous préconisons (formation de benzoate d'éthyle à odeur typique par action à froid de la potasse alcoolique sur les tissus ou les solutions aqueuses) n'est pas spécifique du populoside : le saliréposide la fournit également.

Salidroside. — Découvert par M. BRIDEL et C. BÉGUIN, le salidroside possède la curieuse propriété de donner naissance, par hydrolyse fermentaire, à une très fine odeur de rose ; si l'on vient à contuser ou dilacérer l'écorce du *Salix Triandra*, on observe facilement cette réaction, qui permet de distinguer aisément cette espèce des espèces voisines. Il faut noter que le *Salix arbuscula* fournit la même réaction mais avec moins d'intensité. Les deux espèces poussent rarement dans les mêmes lieux ; le *Salix arbuscula* ne croît que dans les zones alpines et subalpines et ne dépasse pas 90 cm. de hauteur alors que le *S. Triandra* est une espèce de plaine de 4 à 5 m. de hauteur qui n'atteint que rarement 1.650 m. d'altitude (dans les Pyrénées). Des caractères botaniques très apparents permettent d'ailleurs une différenciation aisée.

Les écorces de *S. Glauca* fournissent également une faible odeur de rose.

L'hétéroside existant dans le *Salix arbuscula* est probablement différent du salidroside ; les points de fusion des groupements prosthétiques sont différents (52° et 92°) mais il est nécessaire de traiter de grosses quantités de ces deux arbustes pour pouvoir résoudre cette question. Les écorces et les feuilles de ces deux espèces ne nous ont pas permis de retirer le salicoside.

Salipurposide et isosalipurposide. Flavonolosides. — Nous avons découvert les deux premiers hétérosides dans le *Salix Purpurea*, nous leur avons attribué des formules chimiques très voisines qui forment une transition avec les formules flavonoliques. Les hétérosides flavonoliques existent dans de nombreuses feuilles du genre *Salix* : *Triandra* (rutoside), *arbuscula*, *purpurea*, *nigricans*, *daphnoïdes*. Le rutoside se dédouble en glucose

rhamnose et quercétol. Les hétérosides flavoniques des feuilles de *S. arbuscula*, *purpurea* et *daphnoïdes* se dédoublent en fournissant une molécule de glucose et une molécule de flavonols différents qui n'ont pu être identifiés à des corps connus étant donné la grande incertitude qui règne dans la détermination des constantes physiques des hétérosides flavoniques en général. On sait que le quercétol fondu avec de la potasse entre 200-300° fournit du phloroglucinol et de l'acide protocatéchique ; les flavonols de *Salix nigricans*, *purpurea* et *Daphnoïdes* nous ont fourni l'acide protocatéchique. Le salinigriflavanoloside se scinde probablement à l'hydrolyse en glucose et rhamnose ; il présente des grandes analogies avec le rutoside, mais ses propriétés physiques sont très différentes.

SECONDE PARTIE.

Etude physiologique des hétérosides et des ferments des Salicacées.

Les différentes espèces du genre *Salix* sont, pour certaines du moins, très riches en salicoside et quelques auteurs ont pensé y trouver un matériel commode pour l'étude physiologique du rôle des hétérosides chez les végétaux. Nous nous proposons, dans les pages qui vont suivre, d'exposer brièvement l'essentiel de ces travaux et de les discuter.

Dans le premier chapitre nous étudierons le travail de A. D. JOWETT et C. E. POTTER (*l. c.* p. 102).

Le second chapitre nous permettra d'exposer et de critiquer les travaux de Th. WEEVERS sur la signification physiologique de quelques glucosides.

Le second travail de WEEVERS ayant trait à l'étude des ferments contenus dans les feuilles de *Salix purpurea* fera l'objet du 3^e chapitre, nous y joindrons l'étude détaillée des ferments du *Salix purpurea* que nous avons effectuée et nous montrerons les divergences qui existent entre ces travaux.

Examen critique des travaux de JOWETT et POTTER.

Au cours de l'étude de l'écorce de Saule noir (v. p. 101), nous avons vu quelles objections d'ordre chimique, on peut adresser au travail de A. D. JOWETT sur la salinigrine. Deux années plus tard (1902), cet auteur publie, en collaboration avec C. E. POTTER, un mémoire sur les variations de teneur en salicine et en salinigrine de diverses écorces de saules ou de peupliers.

Les auteurs ont examiné un grand nombre d'espèces (25), mais leurs conclusions sont très critiquables.

Le mode de recherche est le suivant :

Les écorces, provenant des jardins botaniques de *Kew, Edimburg, Cambridge* et *Saint-Louis* (U. S. A) sont extraites par l'eau bouillante ; les colatures sont amenées par concentration à un volume égal au poids de plante et déféquées par 1/10 d'extrait de Saturne. Après essorage, l'excès de plomb est éliminé par un courant de SH^2 le filtrat débarrassé de SPb, est concentré à petit volume sous pression réduite et abandonné à la cristallisation. Les cristaux sont pesés.

Dans les cas (très nombreux) où la cristallisation n'a pas lieu, on dose le glucose sur une portion et on hydrolyse le reste par l'acide sulfurique pendant 1 h. 1/2. La teneur en glucose est déterminée après hydrolyse et le liquide aqueux restant, mis à bouillir avec du mélange sulfochromique pendant 3 heures pour transformer le saligénol libéré en acide salicylique que l'on extrait par l'éther et caractérise par la coloration violette qu'il fournit avec Cl^-Fe dilué.

CRITIQUES. — Ces procédés de caractérisation sont très défectueux.

1° Le salicoside est assez soluble dans l'eau et cristallise difficilement dans un sirop ; la présence de glucose et de saccharose, que la défécation plombique laisse entièrement en solution, retarde beaucoup la formation des cristaux.

Nous avons vu (*S. Pentandra*) qu'il est parfois indispensable de se débarrasser de produits empêchant toute cristallisation par défécation. D'ailleurs parmi les 25 espèces examinées deux seulement ont fourni aux auteurs, l'une 0,4 p. 100, l'autre 0,2 p. 100 de salicoside.

2° Le dosage du glucose avant et après hydrolyse ne signifie rien ; en effet, le saccharose non réducteur existe dans la plupart des écorces que nous avons examinées et l'hydrolyse sulfurique le transforme en sucre interverti, réducteur.

3° Le salicoside est bien hydrolysé par l'acide sulfurique, mais le saligénol formé est polymérisé en *salirétine*, résine insoluble qui résiste ensuite à l'oxydation sulfochromique.

Les travaux de JOWETT et POTTER sont donc sujets à caution. Ces auteurs sont, cependant, les premiers qui aient signalé une différence de teneur en salicoside suivant le sexe de la plante, l'époque et l'endroit de la récolte. Ils ont employé les méthodes de recherches exposées plus haut ; le saule choisi pour les essais fut le *Salix Purpurea*. La teneur en salicoside serait très forte pendant les mois d'hiver (2,2 à 3 p. 100) pour tomber à 0,2 p. 100 en juillet. Les auteurs citent également le cas d'écorces femelles renfermant, à la même époque, et dans la même localité, 3 fois

plus de salicoside que l'écorce mâle (1,2 p. 100) alors que trois mois plus tard les teneurs sont inversées.

Les auteurs concluent que le salicoside est, comme l'amidon, un aliment de réserve. Nous avons vu quelles critiques on peut faire aux procédés de recherche. Ces critiques sont encore plus fortes quand il s'agit de doser le salicoside dans une plante ; selon la teneur plus ou moins grande en glucides autres que le salicoside, on observe des cristallisations d'importance variable ; telle écorce ayant une teneur en salicoside de 2 p. 100, par exemple, permettra d'obtenir un rendement en salicoside plus élevé qu'une écorce ayant une teneur en hétéroside de 4 p. 100 si, dans ce cas, une quantité plus forte de glucose ou de saccharose l'accompagne.

Nous ne pouvons nullement considérer ces travaux comme une base solide pour une interprétation physiologique.



Nous avons constaté chez le *Salix Purpurea* L. (v. p. 61) que les glucides hydrolysables par l'invertine ou par l'émulsine diminuent rapidement au cours de la croissance de la plante. Ainsi, la teneur des rameaux en glucides hydrolysables par l'invertine est de 0,888 le 4 mars, le 23 mars elle n'est plus que de 0,566 pour tomber le 5 mai à 0,087.

Les glucides hydrolysables par l'émulsine subissent également des diminutions sensibles ; la teneur passe de 1 g.,202 le 4 mars, à 1 g.,168 le 23 mars, ce qui est peu important ; mais le 5 mai la teneur n'est plus que de 0,347 en glucose fourni par l'émulsine.

Au début d'août les jeunes rameaux accumulent les glucides et sont à nouveau très riches en saccharose et en salicoside. Le phénomène peut être influencé dans une certaine mesure par des causes que nous n'avons pas analysées : moment de la récolte (soir ou matin), lieu de la récolte, teneur des écorces en eau, proportion d'écorces sèches, etc... Cependant, les conditions aussi semblables que possible, nous permettent de conclure que les glucides hydrolysables par l'émulsine ou par l'invertine diminuent rapidement au début de la végétation et s'accumulent par la suite.

Nous avons étudié la teneur comparée des rameaux ♂ et ♀ de *S. Purpurea* en différents glucides (v. p. 60). Il est très difficile d'effectuer cette comparaison :

1° Ainsi que nous l'avons observé des rameaux cueillis en même temps, au même endroit, sont dans des états physiologiques différents. Les rameaux ♂ sont à une période végétative plus avancée que les rameaux ♀ puisque les châtons ♂ sont épanouis alors que les châtons ♀ sont très peu développés. De plus les rameaux ♀ examinés sont plus trapus que les rameaux ♂.

2° La composition très complexe de ces rameaux ne permet pas un dosage exact des différents principes.

Cependant, il est possible de comparer *grossièrement* les teneurs en principes hydrolysables et nous avons fait remarquer qu'il n'existe pas de différences très grandes entre les rameaux ♂ et les rameaux ♀ correspondants.

Les rameaux ♂ de 1 an renferment 0,530 de glucides réducteurs, 0,888 de saccharose et l'émulsine donne naissance à 1,202 de sucre réducteur. Pour les rameaux ♀ les teneurs sont de 0,458, 0,756 et 1,306.

Pour les rameaux ♂ de 2 ans	les teneurs sont de :	0,460 — 0,690 — 0,767
» ♀ » »		0,366 — 0,874 — 0,940
» ♂ de 3-4 ans	»	0,360 — 0,615 — 0,595
» ♀ » »	»	0,326 — 0,844 — 0,830

Les indices de réduction enzymolytiques sont les mêmes, qu'il s'agisse de plante ♂ ou ♀. Les rameaux de *Salix Purpurea* L. ont des compositions glucidiques voisines. La teneur en glucides est légèrement plus faible dans les rameaux ♂ que dans les rameaux ♀, ce qui tient à leur état physiologique différent.

M. BRIDEL et C. BÉGUIN dans leur étude des rameaux et des écorces de *Salix Triandra* ont montré que les plantes feuillées ♂ et ♀ (6 juin) ont des teneurs en glucides très voisines ; les exemplaires ♂ sont dans un état végétatif un peu plus avancé. Les glucides sont les mêmes dans les deux sortes d'organes, les indices de réduction enzymolytique étant très voisins. Le tableau suivant résume les résultats obtenus par ces auteurs :

	Rameaux ♂	Rameaux ♀	Ecorce ♂	Ecorce ♀
Sucre réducteur initial	0,384	0,384	0,716	1,100
» fourni par l'invertine	0,477	0,492	0,699	0,726
» fourni par l'émulsine	0,219	0,241	0,622	0,444

Ceci montre que, dans le cas de *Salix Triandra*, les rameaux ♂ et ♀ ont des teneurs glucidiques comparables.

Ces 2 exemples nous indiquent qu'il est difficile d'admettre les conclusions de JOWETT et POTTER et que la teneur en glucides des rameaux ♂ et ♀ est très voisine.

Exposé des travaux de Th. WEEVERS (1, 2).

Cet auteur a publié, à quelques années d'intervalle, deux mémoires très importants que nous allons analyser et discuter dans ce chapitre. Sans entrer dans le détail d'interprétation des résultats physiologiques déjà fortement critiqués par A. GORIS, (l. c. p. 26), nous nous contenterons, après un bref exposé de l'œuvre de WEEVERS sur cette question, de présenter les objections d'ordre purement chimique suscitées par la lecture attentive de ce travail.

But du travail de WEEVERS. — Dans ces deux mémoires, WEEVERS tente l'étude de la signification physiologique de quelques glucosides. Le choix du matériel d'étude est expliqué tout d'abord ; l'auteur choisit des plantes renfermant de grosses quantités d'hétérosides. Il s'est adressé successivement, au marron d'Inde (esculoside), au poirier (arbutoside) et surtout aux différentes espèces de Salicacées pour leur teneur considérable en salicoside. Dans la famille des Salicacées, il choisit de préférence le *Salix Purpurea* pour sa richesse en salicoside. Il effectue, il est vrai, quelques analyses sur le *S. Helix* (qui n'est qu'une variété de *S. Purpurea*) et sur quelques espèces de *Populus*.

Nous allons passer rapidement en revue les méthodes de dosage et de recherche préconisées par cet auteur.

WEEVERS élimine d'abord le mode de dosage colorimétrique préconisé par THÉORIN qui consiste à faire des coupes et à colorer le salicoside par SO^3H^2 concentré. Ainsi que le démontre WEEVERS, cette coloration n'est nullement spécifique du salicoside ; des organes qui n'en renferment pas donnent une réaction positive et on peut observer une réaction négative pour des organes qui en contiennent. Peut-être est-ce le cholestérol qui réagit ?

L'épuisement est effectué à l'eau bouillante et parfois à l'alcool bouillant. La stérilisation évite l'hydrolyse des hétérosides pendant la dessiccation.

WEEVERS s'arrête à la méthode de dosage du salicoside par hydrolyse à l'émulsine. Une solution de 0 g.,5 de salicoside dans

(1) Th. WEEVERS. — Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside. *Jahrb. für wiss. Botanik*, 1904, **39**, 229.

(2) Th. WEEVERS. — Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside (suite). *Recueil Travaux Botaniques Néerlandais*, 1910, **7**, 1-61.

1000 cm³ d'eau est hydrolysée pour 99,4 p. 100 en deux jours par l'émulsine. Le dosage de sucre réducteur permet de s'assurer du dédoublement fermentaire.

Les organes sont plongés dans l'eau bouillante et épuisés par ce solvant à plusieurs reprises. Les solutions extractives sont réunies, déféquées à l'extrait de Saturne. L'excès en est enlevé par PO⁴HNa². Ce traitement n'élimine pas le salicoside. L'auteur ajoute alors de l'émulsine (MERCK) et dose le sucre réducteur formé sous l'action du ferment. Si d'autres glucosides existent, ils seront dédoublés et comptés comme salicoside. Les quantités sont ramenées à la matière sèche.

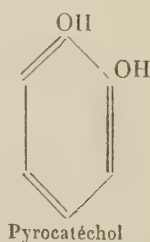
RÉSULTATS. — Du 24 mars au 17 avril les teneurs en salicoside varient considérablement ; il y a, pour les rameaux, une différence de 55 p. 100. Un premier point semble bien établi ; la teneur en salicoside diminue fortement au printemps dans les jeunes rameaux ; que devient le salicoside ? Se transforme-t-il en glucose et saligénol ?

La quantité de glucose varie peu dans les rameaux. Le sucre a pu être condensé ou consommé. Le saligénol a été retrouvé à l'état libre par WEEVERS, dans les jeunes bourgeons seulement, et en quantité très faible. La méthode d'identification n'est d'ailleurs pas des plus nettes.

Y a-t-il un autre produit de transformation ?

WEEVERS isole par extraction à l'éther d'une solution extractive aqueuse des rameaux de *Salix purpurea* alcalinisée par CO³(NH⁴)², puis par sublimation, un produit qui est certainement du pyrocatechol, et l'auteur pense que le saligénol libéré par la glucosidase β des tissus agissant sur le salicoside, se transforme immédiatement en pyrocatechol.

Pour le prouver, il faut démontrer qu'à une accumulation de pyrocatechol correspond une diminution de salicoside et pour cela il faut doser le pyrocatechol.



L'auteur épuise les organes à l'eau bouillante ; les solutions sont épuisées à l'éther qui s'empare du catéchol. L'éther est distillé et

on dissout l'extrait dans l'alcool absolu. On amène à un volume déterminé. 1/10 cm³ de cette solution alcoolique est alors placé sur une plaquette de cuivre légèrement chauffée, pour évaporer l'alcool. On chauffe ensuite fortement en recouvrant le bloc de cuivre d'une lamelle avec une goutte d'eau à la partie supérieure (réfrigérant). Le pyrocatéchol se sublime et on compare la tache produite avec des témoins obtenus au moyen de solutions titrées de catéchol.

Des rameaux renferment avant la poussée 351 mg. de salicoside (pour 17 g. de poids sec) et 36 de catéchol ; après la poussée, 287 mg. de salicoside et 59 de catéchol.

Il y a une augmentation du catéchol (23 mg.). Si tout le salicoside hydrolysé fournissait du catéchol, il y aurait une augmentation de 24,7. Les variations ont donc bien lieu dans un rapport voisin du rapport des poids moléculaires.

En possession de ces méthodes de dosage, l'auteur va étudier la formation et le transport du salicoside. Les méthodes de prélèvement biologique sont excellentes et les résultats sont ramenés à un nombre d'organes déterminés. Les analyses de feuilles sont effectuées sur des demi-feuilles, ce qui permet de prélever l'autre moitié en fin d'expérience.

	Salicoside	Catéchol	
200 1/2 feuilles le soir. . . .	224,8	30	
» » le matin . . .	162	50	
Salicoside disparu 62 mg, fournissant 24 mg. de catéchol.			
Catéchol formé 20 mg.			
	Glucose p. 100 (de sec)	Salicoside p. 100 (de sec)	Catéchol p. 100 (de sec)
Ecorces, le soir.	0,9	3,8	0,64
» le matin. . . .	0,9	6,3	0,49
Ecorce d'un rameau défeuillé le matin. . .	3,8	3.	

Ces résultats montrent :

Que le salicoside s'accumule pendant le jour et diminue pendant la nuit, dans les feuilles ;

Que le catéchol diminue pendant le jour et augmente pendant la nuit, dans les feuilles ;

Que le salicoside diminue pendant le jour et augmente pendant la nuit, dans l'écorce ;

Que le catéchol augmente pendant le jour et diminue pendant la nuit, dans l'écorce ;

WEEVERS explique cet ensemble de phénomènes en admettant que le catéchol n'est pas transporté. Le salicoside formé

pendant le jour par les feuilles est hydrolysé pendant la nuit en glucose, qui se dirige vers les rameaux, et catéchol, qui reste dans les feuilles. Le glucose ainsi transporté se combine dans les rameaux au catéchol libéré par l'hydrolyse diurne du salicoside de ces organes. Ceci serait en accord avec une hypothèse de PFEFFER ; les composés de benzène sont difficilement dialysables. Ceci n'explique pas la formation du salicoside ou du catéchol dans les parties nouvelles. Telle est la première partie du travail de WEEVERS que nous allons maintenant discuter.

Discussion des travaux de Th. WEEVERS.

1. Dans l'exposé des travaux de WEEVERS, un fait nous a d'abord frappé ; il est impossible, expérimentalement, de reprendre ces expériences ; en effet, *l'auteur ne donne aucune précision sur les modes opératoires.*

Donnons en quelques exemples.

La préparation des liquides pour le dosage du salicoside a lieu de la façon suivante : faire bouillir les tissus (combien ?) avec de l'eau (combien ?) plusieurs fois (combien ?). Déféquer par l'extract de Saturne (combien?). Précipiter l'excès de plomb par le phosphate de soude (combien?). L'auteur ne dit pas s'il a observé des entraînements d'adsorption par les 2 précipités formés dans le liquide. Cette adsorption ainsi que nous l'avons observé, n'est nullement négligeable.

L'identification du saligénol est faite par mesure de l'angle des cristaux (pas de point de fusion !). Pour extraire le pyrocatechol, les organes sont épuisés par l'eau bouillante (comment ?), puis agités à l'éther (combien d'éther et combien d'épuisements ?). Nous avons remarqué que l'épuisement à l'éther est des plus pénibles et qu'il se forme une émulsion presque impossible à détruire entièrement. Les solutions éthérées sont distillées à sec et reprises par l'alcool absolu (combien ?), on place 1/10 de cm³ de cette solution sur le bloc à sublimation et on chauffe *fortement* (à quelle température ?), etc, etc...

Pour ces raisons il est impossible de contrôler les résultats présentés par WEEVERS.

2. Cette première critique a, certes, son importance, néanmoins, à ce défaut d'exposition, vient se joindre une imperfection de méthodes.

A. Le dosage du salicoside. — L'auteur a sagement abandonné toutes les méthodes inexactes employées avant lui ; il utilise une action fermentaire beaucoup plus spécifique. Cependant la méthode employée n'est pas exempte de critiques.

Les organes sont épuisés, comme nous l'avons vu, par l'eau bouillante ; j'ai interprété que 50 g. d'organes frais sont épuisés par 1000 cm³ d'eau. La solution après défécation représente donc un volume voisin ou égal à 1000 cm³. Cette dilution produit une très faible concentration des produits à doser ; l'emploi du polarimètre est impossible ; seul le dosage des sucres réducteurs permet d'apprécier les changements.

L'auteur ajoute 0 g.,50 d'émulsine au liquide d'essai, cette addition est critiquable.

α) L'émulsine ne renferme pas seulement la glucosidase β. Elle possède une action, faible il est vrai, sur le saccharose ; je me suis assuré que, dans des conditions expérimentales très voisines (dosage après 48 heures), l'action de l'invertine sur le saccharose, renfermé dans presque tous les organes, provoque une erreur par excès de 8 p. 100 sur le dosage du salicoside. WEEVERS ne nous indique pas si l'émulsine Merck employée par lui, agit sur le saccharose.

β) « Si d'autres glucosides existent, on les calcule comme salicine ». Cette attitude est, à tout le moins, étrange pour un physiologiste. Cette prévision, comme nous l'avons vu, s'est réalisée. WEEVERS a isolé des feuilles très jeunes le populoside ; il n'est pas hydrolysé par l'émulsine, comme il le remarque ; il ne peut donc fausser les dosages. Le populoside d'après WEEVERS ne varie pas ; sa méthode de dosage est d'ailleurs toute aussi critiquable que la précédente. Cependant le salicoside et le populoside présentent une grande parenté chimique et on peut aussi penser à une parenté biologique. Le dosage du populoside et l'étude de ses variations s'impose pour faire œuvre exacte.

La présence du populoside ne perturbe pas les dosages. Mais, ainsi que nous l'avons vu au cours de notre étude, la composition hétérosidique du *Salix purpurea* est très complexe.

Dans les feuilles on trouve : populoside, salicoside, flavopurposide.

Dans les très jeunes rameaux : salicoside, populoside.

Dans les rameaux de 2 ans : salicoside et salipurposide, des traces de populoside.

Dans les vieilles écorces : salicoside, salipurposide et isosalipurposide.

1° Les feuilles ne renferment pas les mêmes hétérosides que les tiges,

2° Le nombre des hétérosides différents est de 5 dont 4 sont hydrolysables par l'émulsine.

L'isosalipurposide, le salipurposide et le flavopurposide sont lentement hydrolysables par l'émulsine ; leur présence suffit cependant à rendre aberrants les indices de réduction enzymolytique, ainsi que nous l'avons constaté. Remarquons que la défécation plombique effectuée par WEEVERS élimine partiellement ces hétérosides. Il est bien certain que le cas du *Salix purpurea* est trop complexe pour tenter l'étude de la signification biologique d'un hétéroside. Aussi les expériences de WEEVERS nous semblent sujettes à caution et le problème doit être entièrement repris.

B. Le dosage du catéchol. - Nous avons vu qu'il est impossible de répéter ce dosage, la technique de WEEVERS n'étant pas assez explicite. De plus, l'épuisement de la liqueur aqueuse par l'éther selon le procédé de WEEVERS est impraticable ; il se forme une émulsion tenace ; le catéchol est très soluble dans l'eau et l'éther l'enlève très difficilement à sa solution aqueuse. Ce fait, signalé par M. N. WATTIEZ, n'a pas été observé par WEEVERS. Nous-mêmes avons remarqué que dans l'appareil à épuisement continu de FAYOLLE et LORMAND [*Chim. et Ind.* 1912, 8, 273] il faut plus de 24 heures de passage pour enlever tout le catéchol, soit près de 30 litres d'éther pour 200 g. de plante.

D'autre part, le dosage, annoncé par WEEVERS comme exact, nous semble comporter bien des aléas ; l'appréciation et la comparaison de deux taches ou de 2 dépôts, même par un œil exercé, présente une grosse part d'incertitude.

La prise d'essai étant de 1/10 de cm³, l'erreur absolue peut, à mon avis, être *énorme*. Admettons cependant que la méthode soit exacte.

3. WEEVERS avoue lui-même que l'extract éthéré renferme une matière colorante jaune et un corps cristallisé peu soluble dans l'eau froide, soluble dans l'eau chaude, constitué surtout par du populoside. Nous avons vu que le salipurposide et l'isosalipurposide ont une solubilité dans l'éther saturé d'eau qui n'est pas négligeable, puisque nous avons pu les extraire par cette méthode. Les extraits éthérés de WEEVERS sont souillés, selon les organes, de populoside, de salipurposide, d'isosalipurposide, de flavopurposide. Tous ces corps fournissent des sublimes quand on les chauffe à haute température : acide benzoïque, phloroglucinol, etc... Les taches de sublimation sont peut être dues uniquement à ces hétérosides que les écorces ou les feuilles

renferment en quantités importantes. WEEVERS estime que les feuilles renferme 1,7 p. 10 de populoside ; il fournira environ 0,60 d'acide benzoïque, quantité presque identique à celle du catéchol des feuilles (0,65).

Il semble bien prouvé, cependant, que le pyrocatechol existe dans les organes de nombreuses Salicacées. En effet WEEVERS l'a caractérisé par sublimation et plus récemment M. N. WATTIEZ l'a isolé à l'état cristallisé de l'écorce de *Salix repens*. Nous-mêmes avons pressenti la présence de ce diphénol dans de très nombreuses espèces, sans que nous l'ayions mentionné dans notre travail, le mode d'identification ne nous semblant pas à l'abri de toute critique. De plus, nous inspirant des travaux de N. WATTIEZ sur l'isolement de ce diphénol, il nous a été possible de caractériser le catéchol dans l'écorce de *Salix nigricans* qui ne renferme que du *picéoside*. Il serait bien étonnant que le pyrocatechol joue, là encore, un rôle dans la synthèse des hétérosides par la plante.

MODE OPÉRATOIRE. — 150 cm³ de solution d'écorce de *S. Nigricans* = 150 g. d'écorce fraîche déjà épuisés par deux fois à l'éther, sont placés dans l'allonge du perforateur de FAYOLLE et LORMAND. On épuise à l'éther pendant 24 heures. Il passe environ 30 l. d'éther. La solution éthérée est déshydratée par SO⁴Na² anhydre, additionnée de noir animal puis filtrée. La solution évaporée à sec, est reprise par 30 cm³ d'eau et filtrée. On ajoute alors 1 cm³ d'extrait de Saturne et le mélange est centrifugé. Le précipité est lavé à l'eau distillée, puis décomposé par SH². On filtre pour éliminer SPb. et on évapore à sec dans le vide. On reprend l'extrait par 20 cm³ d'éther. On déshydrate par SO⁴Na² anhydre ; le liquide évaporé à sec fournit une masse incolore qui, dissoute dans un peu d'eau, donne avec Cl³Fe dilué une coloration verte intense virant au rouge grenat par CO³Na² à 5 p. 100. Ces 2 réactions et la précipitation par l'extrait de Saturne sont fournies par le pyrocatechol.

Admettons néanmoins la présence du seul catéchol dans les sublimate.

Est-ce que le pyrocatechol ne possède pas plus d'affinités biologiques avec le groupe des tanins dont beaucoup fournissent par sublimation le pyrocatechol. Les feuilles et les écorces de *Salix Purpurea* sont très riches en substances tanniques. Est-ce que les variations du catéchol, ne seraient pas en rapport avec le métabolisme du tanin ? Nous avons remarqué en épuisant des feuilles à l'eau bouillante que les solutions extractives brunissent au cours de l'ébullition : il est possible qu'au cours de l'ébullition prolongée, le tanin se décompose partiellement en libérant un peu de pyrocatechol.

CONCLUSIONS. — 1° Les dosages employés par WEEVERS manquent de précision dans l'énoncé et il est impossible de les reprendre.

2° Le dosage du salicoside est soumis à de nombreuses erreurs : la principale consiste en l'ignorance par WEEVERS de la composition hétérosidique exacte du *Salix Purpurea*.

3° Nous pensons que le dosage du pyrocatéchol effectué par WEEVERS ne correspond à rien de précis et que la présence du pyrocatéchol n'a pas de relation bien nette avec celle du salicoside. Bien que les résultats des expériences de WEEVERS forment un ensemble très séduisant, l'étude biologique du rôle du salicoside est à reprendre, pour apprécier exactement la part qui revient à cet hétéroside dans le métabolisme de *Salix purpurea*. Les études de WEEVERS sur le pyrocatéchol et son rôle sont soumises à de telles erreurs qu'on ne peut en tenir compte.



L'ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DES HÉTÉROSIDES CHEZ LES SALICACÉES.

Nous n'avons pu effectuer de recherches physiologiques suivies sur les hétérosides : nous venons de voir combien ils sont variés dans cette famille et ce n'est qu'à la fin de notre étude chimique que nous avons pu fixer notre choix sur une espèce.

1° La composition hétérosidique doit être aussi simple que possible.

2° La teneur en hétéroside doit être assez forte pour permettre des dosages précis.

3° La culture de cette plante doit être facile aux abords immédiats du laboratoire.

4° Les feuilles et les tiges doivent être de dimensions suffisantes.

Nous avons ainsi éliminé : toutes les espèces alpines qui sont le plus souvent, naines et d'une récolte difficile ; les *Salix repens* et *Phyllicifolia* qui s'acclimatent mal ; les *Salix purpurea*, *Triandra*, *daphnoïdes*, *pentandra* pour leur composition trop complexe ou mal connue.

Les espèces les plus aptes à l'étude physiologique des transformations des hétérosides nous semblent être le *S. cinerea* ou mieux le *Salix nigricans*. Cette espèce renferme, il est vrai, du salicoside dans les feuilles et du picéoside dans les rameaux : les rameaux de cette espèce sont d'une récolte facile ; la teneur en hétéroside est considérable. Les plantations de cet arbuste sont effectuées et les dosages biologiques des glucides seront bientôt entrepris sur les organes de cette espèce.

ÉTUDE DES ASEs DES FEUILLES DE *SALIX PURPUREA* L.

Th. WEEVERS, dans l'étude qu'il a consacrée à la signification physiologique de quelques hétérosides, a longuement insisté sur les propriétés biologiques particulières des produits fermentaires retirés de *Salix purpurea* L.

Nous allons rappeler rapidement les faits établis par cet auteur ; nous exposerons ensuite les travaux que nous avons effectués sur ce sujet, enfin nous discuterons les conclusions de Th. WEEVERS.

Travaux de Th. Weevers.

Cet auteur remarque d'abord justement que les écorces séchées à l'étuve possèdent une teneur en salicoside plus faible que les écorces fraîches stabilisées ; les écorces séchées renferment une quantité de glucose plus grande. WEEVERS pense qu'il existe dans l'écorce une diastase susceptible de dédoubler le salicoside en glucose et saligénol au cours de l'autolyse partielle provoquée par la dessiccation.

PRÉPARATION D'UN PRODUIT FERMENTAIRE.

Les jeunes pousses de *Salix Purpurea* sont pilées au mortier ; la bouillie est essorée et le jus est additionné d'alcool. Le précipité est lavé à l'alcool et dissous dans l'eau ; il ne renferme ni catéchol, ni saligénol et ne réduit pas la liqueur de FEHLING.

Cette solution hydrolyse le salicoside ; à la température de 40°, 18 p. 100 du salicoside sont dédoublés en 1 jour, 28 p. 100 en 2 jours et 46 p. 100 en 3 jours.

Cette solution n'agit pas sur l'amygdalosite ; elle ne renfermerait donc pas d'*amygdalase* ; de même, elle n'agit pas sur l'arbutoside, donc pas d'*arbutase*. L'auteur pense à l'individualité d'une *salicase*.

Dans son premier travail WEEVERS suppose que le catéchol est oxydé par la tyrosinase, ce qui produit la coloration noire caractéristique de nombreuses feuilles de saules et de peupliers au cours de l'autolyse.

WEEVERS montre, dans son étude du ferment oxydant ou salixoxydase contenu dans ce produit, que ce n'est pas la tyrosi-

nase puisqu'elle n'agit ni sur la tyrosine ni sur les 3 crésols, *o*, *m* et *p*. Cependant avec tous ces produits, on observe une coloration du liquide, surtout avec l'ortho. La salixoxydase noircit le pyrocatechol très rapidement, n'oxyde pas le pyrogallol et pas du tout le résorcinol, ne colore pas l'émulsion de Gaïac même en présence d'eau oxygénée. Elle contient une catalase ; en milieu neutre ou faiblement acide, l'enzyme brut de *Salix purpurea* produit lentement la formation d'un précipité noir avec une solution de saligénol, semblable à celui produit avec le catéchol ; d'ailleurs il reste plus des 3/4 du saligénol après la formation du précipité.

Si on porte une solution d'enzyme brut à 85° (combien de temps ?), le liquide ainsi traité produit encore un précipité noir avec le catéchol mais rien avec le saligénol. Il y aurait donc dans l'enzyme brut, 2 ferments, la saligéninase qui transforme le saligénol en catéchol et la catécholase qui oxyde le catéchol formé. *L'auteur n'a jamais pu obtenir le catéchol à partir du saligénol.* Il suppose que le catéchol est immédiatement oxydé par la catécholase.

Avec l'hydroquinone, l'enzyme brut donne en une heure une coloration rouge qui brunit en 6 heures.

I. — HYDROLASES.

Nous avons préparé plusieurs produits différents à partir des feuilles ou des jeunes tiges de *Salix purpurea*. Nous nous sommes adressés, de préférence, aux feuilles pour leur activité fermentaire plus intense.

1° 10 g. de feuilles sont contusées et délayées dans 10 g. d'eau. Le liquide d'expression est filtré. Nous désignerons ce produit conservé sous toluène par *P. 1*.

2° Nous avons ensuite préparé un produit fermentaire *P. 2* semblable à celui préparé par WEEVERS. Pour cela 250 g. de jeunes rameaux de *Salix purpurea* sont broyés au hachoir, contusés et délayés dans 500 cm³ d'eau. On ajoute 2 cm³ de chloroforme et on agite vigoureusement pendant 20'. On exprime et on additionne le liquide clair obtenu de deux volumes d'alcool. Le précipité léger est recueilli sur un filtre de BÜCHNER lavé à l'alcool puis à l'éther et enfin séché. Après pulvérisation on obtient une poudre jaune grisâtre pesant 2 g.,10.

3° La poudre *P. 3* est préparée à partir de feuilles sèches de *Salix purpurea*. Il est très facile de sécher les feuilles à 30° sans provoquer le moindre noircissement. La dessiccation d'organes plus charnus

comme le tiges et les très jeunes rameaux est impossible sans qu'il ne se développe un noircissement intense. Les feuilles sont pulvérisées finement, épuisées par une percolation rapide (3 heures) au moyen d'alcool à 95°, puis à l'éther. La poudre est séchée.

4° La poudre P. 4 est obtenue par lixiviation de la poudre sèche de feuilles par l'éther dans une allonge du Soxhlet pendant 6 heures. La poudre est alors épuisée par agitation à l'alcool à 85° (6 heures). On essore et renouvelle l'alcool. On agite pendant le même temps. On épuise ensuite par l'alcool à 95° (agitation 6 heures) puis on recueille et lave à l'éther.

5° P. 5 est obtenu en épuisant par une longue macération de 4 jours les feuilles fraîches d'abord à l'alcool à 85° puis à l'alcool à 95° et enfin à l'éther.

6° P. 6 est préparé d'une façon semblable à P. 5 mais par macérations plus courtes (12 heures).

7° La poudre P. 7 est constituée par de la poudre très fine de feuilles de *Salix purpurea*.

Le produit P. 1 a été abandonné car les ases s'altèrent rapidement en solution aqueuse.

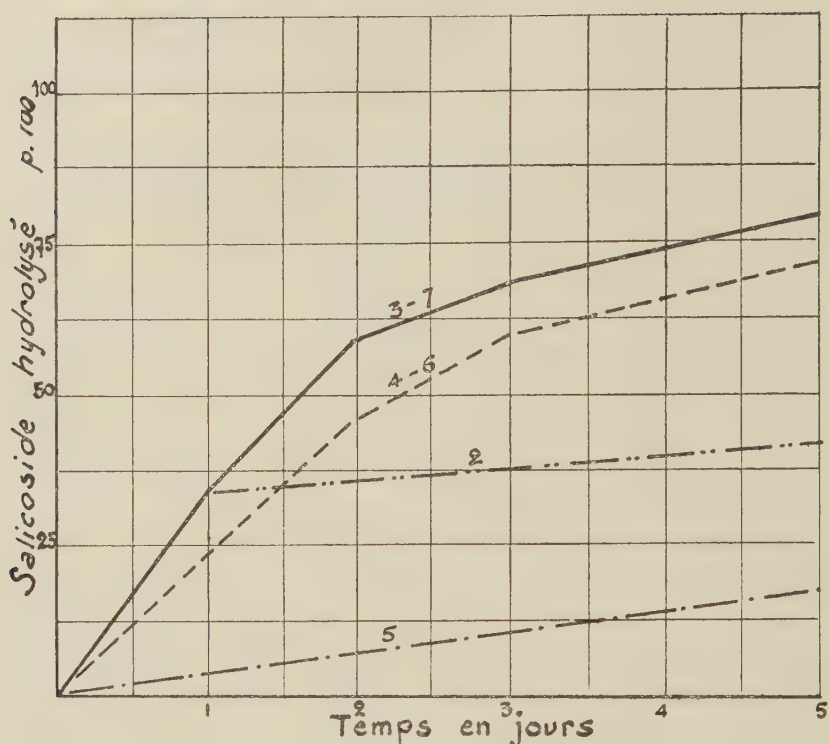
Action des produits fermentaires sur le salicoside.

Nous avons voulu vérifier l'hydrolyse du salicoside en glucose et saligénol.

Pour cela, 40 cm³ de solution de salicoside à 2 p. 100 sont additionnés de 0 g.,10 de produit P 2 : pour l'essai des autres produits on ajoute 0 g.,50 de poudre sèche dans 40 cm³ de solution de salicoside à 2 p. 100, puis quelques gouttes de toluène dans chaque essai ; les flacons sont placés à l'étuve à 30° et agités fréquemment. On prélève à des intervalles de temps fixes (tous les jours), 8 cm³ de chaque liquide qui est déféqué par addition d'une goutte d'extrait de Saturne pur. Le filtrat limpide est examiné au polarimètre. De la déviation observée, on déduit le pourcentage de salicoside hydrolysé. Un dosage de sucre réducteur permet de vérifier l'exactitude des lectures. Des essais témoins effectués avec les produits fermentaires sans addition de salicoside nous ont fourni, dans les mêmes conditions, des liquides ne déviant pas ou très peu à la lumière polarisée. Les courbes ci-jointes résument les résultats.

L'examen de ces courbes nous montre que :

1° Le produit fermentaire (2) analogue à celui préparé par WEEVERS provoque l'hydrolyse de 36 p. 100 du salicoside ; la liqueur se colore rapidement en noir (12 heures) ; l'hydrolyse



s'arrête au bout de ce temps et ne progresse plus que très lentement. Le produit obtenu par WEEVERS hydrolysait 18 p. 100 seulement du salicoside ; il est vrai que nous ne possédons aucun renseignement sur le *modus operandi* de cet auteur.

2° Les poudres fermentaires (3) et (7) sont les plus actives. La poudre (7) n'a pas été épuisée ; la poudre 3 l'a été très rapidement.

3° Les poudres fermentaires (4) et (6) sont légèrement moins actives que les poudres (3) et (7) ; cela tient à ce que l'épuisement de la poudre sèche a été plus poussé et à ce que les poudres sont demeurées plus longtemps en présence d'alcool et d'éther.

4° La poudre (5) qui est restée longtemps en présence des solvants est beaucoup moins active.

5° Dans tous ces essais nous avons remarqué que les poudres fermentaires se colorent en noir. Cette coloration se produit, au début, sur la portion de la poudre fermentaire qui est au contact de l'air du flacon. Ce fait nous amène à penser que l'oxygène de l'air est nécessaire pour effectuer le phénomène diastasi-que de noircissement que nous examinerons plus loin.

Comparons l'hydrolyse diastasique ainsi obtenue avec l'hydrolyse par l'émulsine ordinaire.

Dans cet essai nous avons fait agir une solution très diluée (1 p. 100) une préparation d'émulsine peu active sur des solutions de divers hétérosides. Le titre de ces solutions est établi de telle sorte que, en fin de réaction, il y ait, dans tous les cas, la même quantité de glucose ; nous avons choisi ce titre en glucose de 2 p. 100. Nous avons préparé les solutions suivantes :

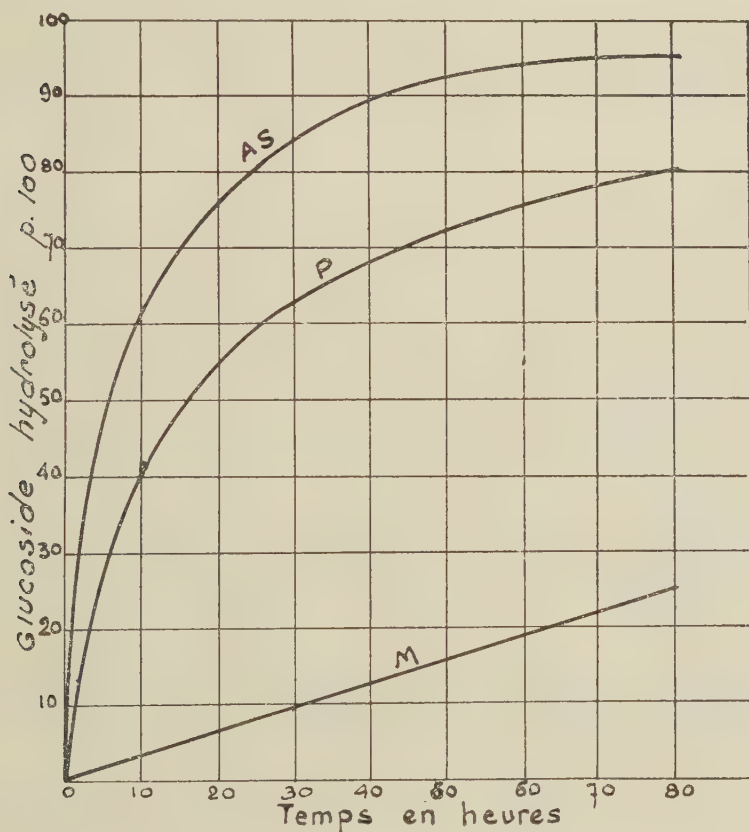
1 g.,42 d'amygdalosite hydraté dans 40 cm³ d'eau.

1 g.,65 de picéosite dans 40 cm³ d'eau.

1 g.,59 de salicoside dans 40 cm³ d'eau.

1 g.,07 de méthylglucoside β dans 40 cm³ d'eau.

Nous avons prélevé 8 cm³ de chaque solution et nous avons ajouté 2 cm³ de la solution limpide d'émulsine. Chaque liquide ainsi préparé est versé dans un tube polarimétrique de 2 dm et on observe au polarimètre d'abord toutes les 30', puis toutes les heures enfin de jour en jour pendant plus de 3 jours.



1° La courbe supérieure (marquée A. S.) correspond aux hydrolyses par le ferment de l'amygdalosite et du salicoside ; les 2 courbes obtenues sont extrêmement voisines et l'échelle réduite du tableau ne permet pas de les distinguer. La réaction d'abord très rapide, diminue déjà au bout de 6 heures ; elle devient très faible après 48 heures ; à l'arrêt des mesures (79 heures) 95 p. 100 des hétérosides sont hydrolysés.

2° L'hydrolyse du picéside (courbe P.) est nettement moins rapide ; cependant la vitesse d'hydrolyse est sensiblement constante pendant 24 heures ; en 79 heures, 80 p. 100 du picéside sont hydrolysés.

3° L'hydrolyse du méthylglucoside β (courbe M.) présente une vitesse à peu près constante pendant les 79 heures d'observation. L'hydrolyse de ce produit est très pénible puisque, en ce temps, 25 p. 100 seulement du produit sont dédoublés.

DISCUSSION. — De très faibles quantités d'émulsine agissent de façon tout à fait comparable aux produits fermentaires (3) ou (7) sur le salicoside (courbe 3.7) : dans les expériences citées les vitesses sont plus grandes dans le cas de l'émulsine. Ceci tient à la plus faible quantité de ferment contenue dans les feuilles de *Salix purpurea*. *L'allure générale des courbes est la même.*

Nous sommes donc amenés à penser que les ferments qui agissent sur le salicoside dans l'émulsine des amandes et dans les poudres fermentaires possèdent des propriétés voisines.

CONCLUSION. — Les poudres fermentaires de *Salix purpurea* L. hydrolysent les solutions de salicoside de la même façon qu'une solution d'émulsine.

Il faut remarquer que les produits d'hydrolyse (aldéhyde benzoïque, saligénol, picéol) s'accumulant dans le milieu retardent la réaction (v. p. 163). Cette action, ainsi que nous avons pu le constater, ne se fait sentir qu'après une douzaine d'heures. Il est difficile de tirer de ces phénomènes des lois exactes comme l'ont fait M. H. COLIN et Mlle CHAUDUN [*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, 5, 382].

Les poudres fermentaires des feuilles de *Salix purpurea* hydrolysent le salicoside comme l'émulsine des amandes ; seule la vitesse d'hydrolyse est plus faible.

Action sur les hétérosides β .

Les poudres fermentaires de feuilles de Salix Purpurea hydrolysent-elles seulement le salicoside ?

Nous avons vu que Th. WEEVERS a retiré des jeunes rameaux de *S. purpurea* un produit qui hydrolyse le salicoside sans hydrolyser l'amygdaloside ou l'arbutoside.

SIGMUND [*Sitzber. Akad. der Wiss. Wien.*, 117 (IX), 1909] a signalé, avant WEEVERS ce fait intéressant : les feuilles de certains *Salix* ou *Populus* hydrolysent le salicoside (environ 15 p. 100 en 12 jours) sans qu'on puisse déceler l'hydrolyse de l'amygdaloside (en 8 jours).

De même H. E. ARMSTRONG et ses collaborateurs [*Studies on Enzyme Action*, XVII, *Proc. Roy. Soc.*, 1908] ont aussi étudié le comportement de divers produits envers l'amygdonitrileglucoside, l'amygdaloside et le salicoside. Nous ne mentionnerons que quelques essais relatifs au salicoside.

La poudre fermentaire de *Laurus lusitanica* hydrolyse 91,7 p. 100 d'amygdonitrileglucoside sans toucher au salicoside. Au contraire, le *Salix rubra* hydrolyse le salicoside sans toucher à l'amygdonitrileglucoside.

On peut faire aux essais ci-dessus mentionnés deux critiques importantes :

1° La quantité d'hétéroside hydrolysé est trop faible ; dans la plupart des essais le pourcentage de produit décomposé ne dépasse pas 20 p. 100.

2° L'action des ferments n'est pas assez prolongée. (SIGMUND 12 jours, ARMSTRONG, 24 heures).

On sait que les hétérosides ne sont pas tous hydrolysés avec la même vitesse. Nous avons vu qu'il existe des différences sensibles de vitesse entre l'hydrolyse du salicoside et celle du picéside ou du méthylglucoside, et que cette vitesse dépend de l'origine des produits fermentaires. Ces travaux auraient dû comporter une durée d'observation plus grande et il aurait fallu conduire l'expérience jusqu'à une hydrolyse avancée d'un hétéroside sans que l'autre fût touché.

Nous avons voulu nous rendre compte de la véracité de cette observation et nous en avons profité pour étudier l'action des poudres de *Salix purpurea* sur divers autres hétérosides.

Les essais sont ainsi conduits :

Les solutions d'hétérosides sont établies de telle sorte qu'en fin d'action il y ait la même quantité de glucose dans tous les essais ;

la teneur en glucose finale est choisie de 2 g. p. 100 comme dans les essais précédents. A 50 cm³ de chaque solution, on ajoute 0.50 de poudre fermentaire N° 3 dont l'activité sur le salicoside est la meilleure. Un essai témoin nous a montré que ce produit n'apporte pas de sucre réducteur en quantité appréciable et qu'il ne dévie pas la lumière polarisée.

Les solutions sont additionnées de toluène, placées, à l'étuve à 30° et fréquemment agitées. On détermine la déviation après défécation à l'extrait de Saturne (1 goutte p. 10 cm³) et on dose le sucre réducteur. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-contre.

	2 jours	19 jours	48 jours	Observations
1. Phénolglucoside β .	24,5	63		Odeur de phénol, puis noircissement intense de la poudre fermentaire.
2. Salicoside.....	49	80	93,5	Poudre fermentaire noire en 2 j.; odeur forte.
3. Hélicoside	7,6	88,7		Odeur forte d'ald. salicyl. noircissement très faible.
4. Picéoside	78	92	92	Poudre fermentaire inchangée.
5 Chloropicéoside (1).	55,8	95		Poudre et liquide incolores.
6. Arbutoside	12,6	24,4	43,2	La solution présente un abondant précipité brun. La décoloration au noir animal de la liqueur déféquée est nécessaire.
6. Méthylglucoside ...	0	6	26	
7. Benzylglucoside ...	0	15,4	24,2	
8. Amygdonitrile glucoside	0	9,6	13,3	Très légère odeur d'ald. benzoïque au bout de 2 j. L'odeur se développe ensuite.
9. Amygdaloside.....	0	12	25	Très légère odeur d'ald. benzoïque au bout de 2 j.; l'odeur se développe par la suite. L'indice de réduction est 510. (Théorie 438).
10. Aucuboside.....	1,6	4,3	14,6	La solution présente un abondant précipité noir. Le liquide doit être décoloré au noir animal.

(1) Ce dérivé monochloré est obtenu par action de Cl₂ sur une solution de picéoside dans le carbonate de soude.

DISCUSSION. — Le tableau ci-dessus nous fait remarquer des différences considérables dans les vitesses de réaction. En effet, dans les premiers essais, nous constatons que :

1° Le picéoside et l'hélicoside sont hydrolysés avec une vitesse initiale considérable (38 et 76 p. 100 en 2 jours).

2° Le salicoside est hydrolysé plus lentement que le picéoside ou l'hélicoside. Ce fait est tout à fait remarquable ; l'émulsine nous a donné un résultat inverse de celui-ci ; le salicoside est hydrolysé plus rapidement par l'émulsine que le picéoside. Ceci vient corroborer le fait que nous avons rappelé plus haut : *la nature des produits fermentaires a une influence sur la vitesse.*

On peut évidemment objecter que le salicoside donne naissance au saligénol qui est transformé par une oxydase, ainsi que nous le verrons ; la poudre fermentaire se colore en noir par dépôt du produit d'oxydation. Ce dépôt peut entraver, dans une certaine mesure, l'hydrolyse du salicoside. Cependant l'influence doit en être faible car nous verrons que l'oxydation est extrêmement lente. Ceci est d'ailleurs vrai pour la plupart des hétérosides étudiés ; les produits phénoliques formés au cours de la réaction diminuent l'activité du ferment et entravent la marche de l'hydrolyse.

3° L'arbutoside est parfaitement hydrolysable par la poudre fermentaire ; la vitesse d'hydrolyse est environ quatre fois plus faible que pour le salicoside ; 12 p. 100 de l'hétéroside sont hydrolysés en 2 jours et l'hydrolyse se poursuit ensuite plus lentement ; l'hydroquinone fournie par l'hydrolyse s'oxyde et retarde certainement l'action du ferment.

4° Nous avons rangé à la fin du tableau les hétérosides difficilement hydrolysables par la poudre fermentaire.

a) L'amygdonitrile glucoside est hydrolysable lentement : en 19 jours 9.6 p. 100 du glucoside sont décomposés ; l'hydrolyse se poursuit. Le liquide d'essai précipité présente une odeur cyanhydrique marquée. La caractérisation de l'acide cyanhydrique donne un résultat positif.

b) L'amygdaloside est aussi hydrolysable lentement par le ferment. En 48 jours 25 p. 100 sont hydrolysés.

c) Le méthylglucoside β , le benzylglucoside β , et l'aucuboside sont aussi lentement hydrolysables.

La poudre fermentaire de *Salix purpurea* hydrolyse rapidement les glucosides de phénol (salicoside, picéoside, hélicoside, chloropicéoside, phénolglucoside β).

Au contraire, les hétérosides dans lesquels l'ose est fixé à une fonction alcoolique sont beaucoup plus lentement décomposés.

En 2 jours, il n'est pas possible de déceler sûrement l'hydrolyse. La nature de la fonction alcoolique semble avoir peu d'importance. En effet, dans le méthylglucoside β et le benzylglucoside β nous avons affaire à une fonction alcool primaire ; dans l'amygdonitrile glucoside et l'amygdalosite, la fonction est secondaire. Enfin, quoique, nous ne connaissons pas la constitution de l'aucuboside, nos expériences nous permettent de penser que la liaison de l'ose à l'aucubigénol n'est pas de nature phénolique.

Les conclusions de WEEVERS, de SIGMUND et de ARMSTRONG sont à notre avis entachées d'erreur ; la durée de l'expérience n'a pas été assez considérable. Faut-il cependant distinguer une phénolglucosidase d'une alcool glucosidase d'après les vitesses de réaction différentes que nous avons observées ? Le fait que l'émulsine hydrolyse aussi rapidement le salicoside que l'amygdalosite et que d'autre part la poudre fermentaire hydrolyse rapidement le salicoside et très lentement l'amygdalosite ou l'amygdonitrile glucoside nous permet-il de conclure à la dualité des ferments ? Les travaux de M. G. BERTRAND et COMPTON (1) sur la différenciation de la salicase et de l'amygdalinase, ont montré que les températures optimales d'action sont différentes pour ces 2 ases. C'est ainsi que, dans les conditions expérimentales données, pour une expérience portant sur une hydrolyse de 2 heures, la température optimale pour le salicoside est de 52°,5 et de 56° pour l'amygdalosite. L'expérience d'hydrolyse d'une durée de 15 heures fournit un optimum de 42°,5 pour le salicoside et de 40° pour l'amygdalosite. Le chevauchement des optima de température est aussi inexplicable ; les différences observées sont très faibles.

Le tableau précédent nous montre que les différences de vitesses sont parfois énormes pour des causes inconnues. Il faudrait admettre qu'il y ait une ase par hétéroside. L'hélicoside, le phénol glucoside β , n'ont pas été rencontrés dans la nature et de nombreux hétérosides synthétiques sont tributaires de l'émulsine. Ceci nous amène à discuter de la spécificité fermentaire ; nous ne tenterons pas cette tâche dans ce travail et nous nous rangerons simplement à l'avis de M. H. COLIN qui déclare que « toutes nos investigations sur le sujet mènent fatalement à la multiplication des diastases, solution simpliste sans doute, mais seule possible tant que nous ne saurons pas définir un système diastasique » (Les diastases I. Les hydrolases. O. Doin, Paris 1931, p. 43).

(1) G. BERTRAND et A. COMPTON. — Action de la chaleur sur l'émulsine (*C.R. Ac. Sc.*, 1911, **152**, 1518) ; (*Ann. Inst. Pasteur*, 1912, **26**, 161).

Sur l'hydrolyse du Salicoside par la poudre fermentaire de feuilles de *Salix Purpurea* et sur quelques phénomènes qui en dérivent.

Nous avons étudié les ases contenues dans la poudre fermentaire de feuilles de *S. purpurea* L.

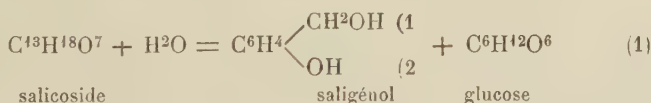
Nous avons démontré la présence d'une glucosidase β hydrolysant rapidement les glucosides β de phénol, lentement les glucosides β d'alcool.

Nous avons constaté au cours de nombreux essais d'hydrolyse du salicoside par cette poudre fermentaire que l'hydrolyse n'est jamais totale : il existe un léger déficit de glucose dosé par réduction : la déviation polarimétrique est beaucoup moins élevée et nous avons observé des différences de plus de 1° entre le chiffre trouvé et le chiffre théorique.

Nous étudierons d'abord l'action de l'émulsine sur le salicoside ou sur un mélange de saligénol et de glucose puis nous chercherons à élucider le phénomène mentionné plus haut ; nous verrons comment la poudre fermentaire effectue l'hydrolyse du salicoside et la synthèse d'une forte quantité de *salicyl-glucoside* β ; enfin dans un dernier chapitre nous aborderons l'étude chimique et physiologique de ce curieux phénomène.

CHAPITRE I. — Hydrolyse du Salicoside par l'émulsine.

On sait que l'émulsine dédouble le salicoside en solution aqueuse suivant le schéma suivant :

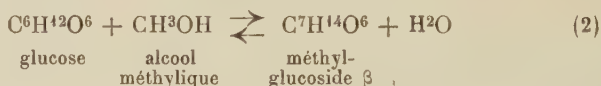


Cette équation est connue depuis fort longtemps. PIRIA en 1845 (l. c. p. 11) l'a mentionnée et l'a appliquée à la préparation du saligénol, impossible à obtenir par hydrolyse acide.

A. W. VISSER [*Ztschr. f. physikal. Chem.*, 52, 258, 1905] faisant agir l'émulsine sur une solution aqueuse (N/16) de glucose et de saligénol constate une légère diminution du pouvoir rotatoire (9') et, après avoir éliminé le glucose et le saligénol, il obtint un extrait, se colorant en rouge par SO^4H^2 concentré, qu'il considère comme étant du salicoside,

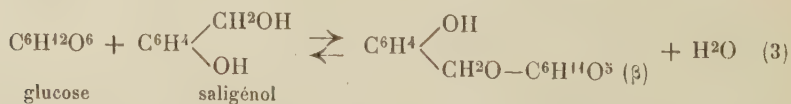
Après avoir étudié l'action de l'émulsine sur le gentiopicroside en solution dans l'acétone et dans l'ester acétique, Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL [*Journ. Pharm. et Chim.* (7) 5, 388 1912] démontrent que le salicoside est parfaitement hydrolysé par l'émulsine en présence d'alcool, bien que le ferment soit insoluble dans un tel milieu : cette expérience conduit les auteurs à la synthèse du méthylglucoside β et à l'étude si féconde de la réversibilité des actions diastasiques.

En 1913, Em. VERDON (Thèse Université Pharmacie Paris 1913) étudie l'action de l'émulsine sur le salicoside dans les alcools méthyliques de différents titres et il montre que le salicoside est parfaitement hydrolysé dans de tels milieux, que le titre de l'alcool soit de 10° ou de 95°. Cependant l'auteur souligne les difficultés qu'il y a dans l'interprétation des expériences, car le phénomène d'hydrolyse selon le schéma (1) libère du glucose qui se combine, par la suite, sous l'action de l'émulsine, à l'alcool méthylique, selon le schéma (2).



L'auteur admet que, dans les alcools forts, il existe un autre équilibre entre le salicoside, le glucose et le saligénol. Em. VERDON et Em. BOURQUELOT [*Journ. Pharm. et Chim.* (7) 7, 482, 1913] ont démontré également que la synthèse du méthylglucoside β s'effectue de la même façon si l'on ajoute au milieu un liquide étranger à la réaction, comme l'acétone.

Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [*Journ. Pharm. et Chim.* (7) 8, 49, 1913] ont tenté, par la suite, la synthèse du salicoside : ils n'y sont pas parvenus, mais ils ont démontré qu'en présence d'acétone (solvant neutre facilitant la solubilité du saligénol) le glucose se combine au saligénol : la fonction alcool primaire s'unit au glucose et fournit le salicylglucoside β que ces auteurs ont obtenu cristallisé. La réaction est la suivante :



Le salicylglucoside β cristallise avec 4 molécules d'eau ; il possède un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = -37^\circ 5$ (hydraté) ; il réduit la liqueur de FEHLING comme le 1/3 de son poids de glucose, se colore en violet pâle par Cl^3Fe dilué et en brun par le suc de *Russula delica* : ces trois réactions montrent que le

produit obtenu est différent du salicoside et que la fonction phénol est libre.

Comme le salicoside, le salicylglucoside β se colore en rouge par SO^4H^2 concentré.

Les auteurs pensent que « au cours du dédoublement de la salicine par l'émulsine, l'état d'équilibre atteint, doit être, dans une certaine mesure, influencé par la réaction synthétisante présentement étudiée qui tend à la formation de ce glucoside aux dépens de la saligénine et du glucose mis en liberté. Si, à de grandes dilutions, dans certains dissolvants, comme l'eau par exemple, ce processus devient pratiquement inobservable, il n'en est pas moins vrai que, au point de vue théorique, il nous apparaît comme tout à fait vraisemblable ».

Aucune tentative de synthèse n'a été, depuis lors, effectuée, à ma connaissance.

CHAPITRE II. — *Hydrolyse du salicoside par la poudre fermentaire de Salix purpurea.*

Au cours de l'étude de la poudre fermentaire de feuilles de *Salix purpurea*, j'ai remarqué qu'il est très difficile d'effectuer une hydrolyse totale du salicoside en ses éléments : la quantité de glucose, dosée par la méthode de M. G. BERTRAND, et la déviation obtenue sont toujours trop faibles. Il est vrai que les hydrolyses par ce ferment sont très lentes et qu'elles demandent parfois plusieurs jours, alors que l'hydrolyse par l'émulsine peut être effectuée en quelques heures.

Nous avons alors étudié cette réaction de plus près.

I. *La poudre fermentaire de feuilles de Salix purpurea hydrolyse le salicoside et effectue la synthèse du salicylglucoside β .*

250 cm³ d'une solution de salicoside à 4 p. 100 sont placés dans un ballon avec 2 g.,50 de poudre fermentaire (1). On ajoute 10 gouttes de toluène et le ballon est rapidement relié à la trompe à mercure et scellé quand le vide est obtenu. Cette précaution est nécessaire car la poudre fermentaire transforme lentement le saligénol libéré par l'hydrolyse en un produit noir (v. p. 194).

Le mélange est porté à l'étuve à 30° et on l'y maintient pendant 19 jours. Le liquide est alors rapidement filtré et séparé de la poudre fermentaire, insoluble : la déviation polarimétrique de ce liquide est de $[\alpha]_D = + 1^\circ$ (1 = 2). Ainsi que nous l'avons déjà montré, au bout

(1) La poudre fermentaire 3 (v. p. 156) sera exclusivement employée au cours de cette étude,

de ce temps, l'hydrolyse du salicoside est complète et devrait fournir un liquide possédant une déviation de $+ 2^{\circ}39'$. De plus le dosage de sucre réducteur indique que la solution ne renferme que 2 g.,35 de glucose au lieu de 2 g.,52, chiffre théorique. L'indice est de 388. La solution est légèrement jaune : la poudre fermentaire restant sur le filtre présente le même aspect qu'au début de l'expérience : nous montrerons plus loin toute l'importance de ces faits. Si l'on abandonne la poudre et le liquide à l'air, on constate que seule la poudre noircit (v. p. 194).

Le liquide est alors versé dans deux volumes d'alcool à 95° bouillant pour tuer et coaguler les ferments. On ajoute du noir animal et on filtre à chaud. La solution incolore est évaporée à sec dans le vide : l'extract est dissous dans l'eau et la solution est épuisée à l'éther pour enlever le saligénol : l'éther évaporé abandonne du saligénol pur qui est desséché : on ne recueille ainsi que 2 g.,50 de saligénol pur au lieu de 4 g.,40 : il y a forcément de légères pertes au cours des manipulations, mais le déficit noté est trop grand pour qu'il puisse s'expliquer par ce seul fait.

La solution aqueuse épuisée à l'éther est évaporée à sec et reprise par 50 cm³ d'alcool absolu. Après un repos de 1 jour il se forme 1 g.,50 de cristaux de glucose pur.

Les eaux-mères sont évaporées à sec et l'extract est soumis à l'action de la levure haute pour détruire le glucose restant en solution. Au bout de 48 heures, la fermentation est achevée et le liquide est versé dans 2 volumes d'alcool bouillant. On filtre et évapore la solution à sec. L'extract est alors repris par 100 cm³ d'ester acétique hydraté à l'ébullition. On laisse reposer un jour et la solution est versée dans un flacon renfermant quelques gouttes d'eau : il se forme immédiatement des cristaux blancs que l'on recueille et dessèche dans le vide : ils pèsent 0 g.,66. Des épuisements conduits de manière identique nous ont fourni, en tout, 1 g.,30 de produit. C'est du *salicylglucoside* β ; ses propriétés concordent exactement avec celles déterminées par Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY.

Nous verrons plus loin, d'après l'indice de réduction enzymologique, que la quantité de salicylglucoside β formée dans ces conditions est voisine de 30 p. 100 du salicoside mis en œuvre soit 3 g. pour cette expérience.

Propriétés. — Les cristaux obtenus sont blancs, de saveur amère, solubles dans l'eau, cristallisant avec 4 molécules d'eau, de pouvoir rotatoire $\alpha_D = - 37^{\circ}8$ (hydraté) ; ils se colorent en mauve pâle par Cl^{Fe} dilué, en brun par le suc de *Russula delicata* et en rouge vif par SO_4H^2 concentré.

L'hydrolyse par l'émulsine est beaucoup plus lente que celle du salicoside : elle fournit du glucose en quantité théorique et du saligénol,

Enfin 100 g. de ce produit réduisent la liqueur de Fehling comme 34 g. de glucose (Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY 30,6 et 34,6). Le produit ainsi obtenu est donc bien le salicyl-d-glucoside β que W. VISSER (*loc. cit.*) semble avoir obtenu à l'état impur par un processus semblable, au moyen de l'émulsine.

Nous avons vu que la poudre fermentaire hydrolyse facilement les glucosides β de phénols et très difficilement les glucosides β d'alcools. Or, la synthèse du salicylglucoside β mettrait en jeu le ferment qui hydrolyse les glucosides β d'alcools.

Nous avons voulu nous rendre compte s'il est possible d'effectuer la synthèse du salicylglucoside β en partant de glucose et de saligénol. Les expériences suivantes sont instituées.

1° 0,50 de poudre fermentaire sont mis en présence de 100 cm³ de solution de glucose à 5 p. 100. La solution toluénée est placée à l'étuve : la déviation polarimétrique et la teneur en sucre réducteur ne varient pas. Il en est de même si l'on effectue cette expérience dans le vide.

2° La solution suivante est préparée :

Glucose anhydre	27 g.
Saligénol	16.60
Eau distillée	300 cm ³

La liqueur est chauffée à l'ébullition pour la stériliser et stabiliser rapidement le pouvoir rotatoire du glucose. Cette solution renferme des proportions équimoléculaires de glucose et de saligénol (N/20). On dose le sucre réducteur et note la déviation polarimétrique ; $\alpha = + 9^{\circ}18'$.

a) 100 cm³ de solution sont placés dans un ballon avec 1 g. de poudre fermentaire et une goutte de toluène : on fait le vide avec la trompe à mercure pour éviter l'oxydation du saligénol par l'oxygène de l'air et on scelle. Le mélange est porté à l'étuve à 30°. On ouvre au bout de 11 jours : l'aspect du liquide n'a pas changé : la déviation polarimétrique n'a diminué que de 8' et le taux de sucre réducteur n'a pas varié.

b) 100 cm³ de solution sont additionnés de 0,20 d'émulsine et de 1 goutte de toluène. On porte à l'étuve à 30° dans un flacon bouché au liège : la déviation polarimétrique diminue légèrement (de $+ 9^{\circ}18'$ à $+ 8^{\circ}50'$) et elle se stabilise à cette dernière valeur : la quantité de sucre réducteur diminue aussi légèrement : ce phénomène est analogue à celui que W. VISSER a observé : il présente une intensité comparable et correspond probablement à la synthèse d'une faible quantité de salicylglucoside β (moins de 2 p. 100 de la somme glucose + saligénol mise en œuvre).

c) 100 cm³ de solution additionnés de 0,20 d'émulsine et de 1 goutte de toluène placés dans un ballon vidé d'air à la trompe à mercure fournissent des résultats identiques à l'expérience b.

Ces expériences montrent que si les lois de la réversibilité diastasique peuvent jouer dans la synthèse du salicylglucoside β au cours de l'hydrolyse du salicoside, elles ne peuvent expliquer le rendement énorme en salicylglucoside β (29 p. 100 du *salicoside hydrolysé*).

3° L'émulsine provoque-t-elle les mêmes phénomènes ?

A 250 cm³ d'une solution de salicoside à 4 p. 100 on ajoute 0,50 d'émulsine et 1 goutte de toluène : le mélange est placé dans un ballon que l'on vide d'air à la trompe à mercure et que l'on scelle. Le ballon est placé à l'étuve à 30°. Au bout de 13 jours il est ouvert : la déviation polarimétrique et le dosage du sucre réducteur formé permettent de conclure à une hydrolyse totale du salicoside selon le schéma (1) : il est bien évident que la réaction de synthèse (2) intervient pour une faible part mais ses effets sont dans ces conditions pratiquement nuls. L'indice de réduction enzymolytique observé est celui du salicoside (321) : une expérience effectuée sans faire le vide nous a permis de constater que cet indice reste toujours identique à lui-même en cours d'hydrolyse.

L'émulsine hydrolyse donc totalement le salicoside.

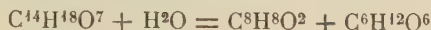
Conclusion. — Les phénomènes de réversibilité diastasique ne permettent pas d'expliquer, à eux seuls, la synthèse importante de salicylglucoside β observée au cours de l'hydrolyse du salicoside par la poudre fermentaire de feuilles de *S. Purpurea* L.

CHAPITRE III. — *Etude chimique et physiologique de ce phénomène.*

L'étude de l'hydrolyse diastasique du salicoside par cette poudre fermentaire présente de nombreuses difficultés : en effet le salicylglucoside β que nous avons isolé est *réducteur* : il est de ce fait très difficile de calculer l'équilibre final du système. Est-il possible d'observer un phénomène analogue au cours de l'hydrolyse d'un autre hétéroside ?

Hydrolyse du picéoside par la poudre fermentaire de Salix Purpurea. — Nous avons vu plus haut que la poudre fermentaire hydrolyse le picéoside : l'hydrolyse de cet hétéroside est même plus rapide que celle du salicoside, toutes choses égales d'ailleurs. De plus, l'hydrolyse du picéoside par ce ferment est *complète* et il ne se forme pas de produits accessoires en quantités notables au cours de la réaction, ainsi que l'indique le calcul de l'indice de réduction enzymolytique qui reste, pendant

tout le temps de l'hydrolyse, identique à l'indice théorique calculé d'après l'équation :



Le picéoside est légèrement réducteur (1 g. réduit comme 0 g.,07 de glucose) ; il est facile d'en tenir compte dans les calculs.

Cette hydrolyse présente les avantages suivants :

- 1° Réaction totale ;
- 2° Absence de réaction secondaire ;
- 3° Parmi les produits de l'hydrolyse, le glucose est seul réducteur et, partant, facile à doser.

Expérience I. — Que se passe-t-il quand on ajoute du saligénol à ce système ?

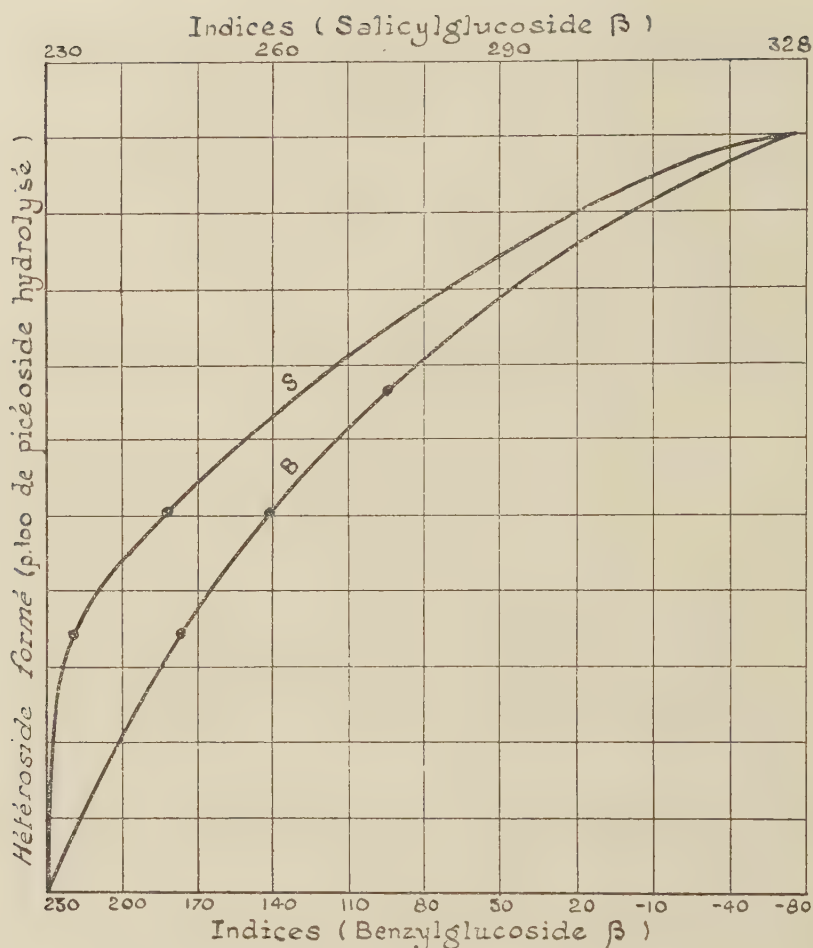
La solution suivante est préparée : Piceoside 1 g. Saligénol 0 g.,10. Eau distillée 25 cm³. Poudre fermentaire 0 g.,10. Toluène 1 goutte. Elle est placée dans un tube qui est soumis au vide de la trompe à mercure et scellé. On prépare deux tubes identiques.

Au départ : $\alpha = - 7^{\circ}$, Réduction (p. 100 cm ³)	= 0,280
Après 9 jours : $\alpha = + 8'$	— = 1,945 Indice 232
Après 16 jours : $\alpha = + 56'$	— = 2,147 Indice 234

L'indice de réduction enzymolytique du picéoside est de 230 : l'addition de saligénol dans ce milieu ne semble pas apporter de changement. Si nous effectuons une expérience semblable sur 5 g. de picéoside, on peut, après avoir privé le liquide hydrolysé de saligénol et de picéol (par épuisement à l'éther) et de glucose (par fermentation) isoler facilement 0 g.,25 de salicylglucoside β pur.

Cette expérience est mal choisie : un calcul très simple montre que, la synthèse de salicylglucoside β aux dépens d'une partie (le tiers) du glucose libéré par l'hydrolyse normale du picéoside fournit un indice de réduction de 234.

La courbe ci-contre représente la variation de l'indice de réduction en fonction du taux de picéoside transformé en salicylglucoside β . Nous ne pouvons percevoir une variation sensible de l'indice que pour une synthèse de plus de 50 p. 100.



Expérience II. — *Pouvons-nous remplacer le saligénol par un autre alcool ?*

Nous avons choisi l'alcool le plus simple : *l'alcool méthylique*.

La solution suivante est préparée :

Picéoside : 2 g. Alcool méthylique 2 cm³. Eau distillée 48 cm³.
Foudre fermentaire 0,20. Toluène 1 goutte. Le mélange est porté à l'étuve à 34° dans un flacon bien bouché.

Au départ	: = - 7°	Réduction (p. 100 cm ³) = 0,280	
Après 1 jour	: = - 5°40'	= 0,369	Indice = 83
Après 7 jours	: = - 2°26'	= 0,667	= 83
Après 12 jours	: = - 1°18'	= 0,774	= 86
Après 23 jours	: = - 42'	= 0,819	= 85
Après 55 jours	: = - 22'	= 0,877	= 89

Cette expérience prouve que l'addition d'alcool méthylique dans ce milieu contribue à abaisser fortement l'indice de réduction enzymolytique (de 230 à 84). De plus l'indice reste sensiblement constant au cours de l'hydrolyse. Il est facile d'interpréter cette diminution de l'indice en admettant qu'il se forme du *méthylglucoside* β par un processus semblable à celui qui nous a fourni du *salicylglucoside* β . Le calcul suivant, que nous donnons à titre d'exemple, montre que la formation de *méthylglucoside* β s'accompagne d'un abaissement de l'indice de réduction enzymolytique : nous supposons, dans ce cas, que la moitié du picéoside est hydrolysé : le glucose formé est, pour moitié, à l'état libre et, pour moitié, sous forme de *méthylglucoside* β .

		Déviatiôn	Sucre réducteur
Départ : picéoside..	4 p. 100	— 7°	0,280
Fin de réaction : picéoside..	2 p. 100	— 3°,50	0,14
Glucose ...	0,60	+ 0°,63	0,60
Méthylglucoside....	0,64	— 0°,39	0
		— 3°,26	0,74

$$\Delta \alpha = 7^\circ - 3^\circ,26 = 3^\circ,74$$

$$\Delta SR = 0,74 - 0,28 = 0,46$$

$$I = \frac{\Delta SR}{\Delta \alpha} = \frac{460}{3,74} = 123$$

Au bout de 1 mois l'indice de réduction *partiel* s'élève à 174. Ceci est dû à ce que l'hydrolyse du picéoside étant complète l'hydrolyse du *méthylglucoside* β formé devient perceptible (indice voisin de 600).

Extraction du méthylglucoside β .

A 3 g. de picéoside, dissous dans 75 cm³ d'eau, on ajoute 4 cm³ d'alcool méthylique, 1 goutte de toluène et 0 g.,50 de poudre fermentaire. Au bout de 12 jours la liqueur possède une déviation polarimétrique de — 1°14' : la quantité de sucre réducteur est de 0 g.,642 (p. 100 cm³), l'indice de réduction est de 63.

On ajoute alors au liquide 6 gouttes d'extrait de Saturne ; on filtre et élimine le plomb en excès par un courant de SH² : la liqueur filtrée est évaporée à sec, agitée à l'éther qui s'empare du picéol formé par l'hydrolyse (1 g.,10) et épuisée par l'ester acétique anhydre (20 cm³). La liqueur est décantée après repos ; elle abandonne des cristaux de picéoside presque pur. L'extrait restant dans le ballon est dissous dans 10 cm³ d'alcool à 95°, à l'ébullition : on ajoute alors 10 cm³ d'ester acétique anhydre et abandonne un jour

au frais. La liqueur décantée et amorcée avec du méthylglucoside β fournit rapidement 0 g.,55 de cristaux ($\alpha_D = -26^\circ 5$) qui sont purifiés par une cristallisation dans 2 cm³ d'alcool à 95°. J'ai pu recueillir 0 g.,30 de cristaux blancs $\alpha_D = -31^\circ 2$ ($\alpha = -38'$; $v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1015$) fondant en même temps que le méthylglucoside pur, facilement hydrolysables par l'émulsine en donnant du glucose.

Dans ces conditions, il se forme bien du méthylglucoside β .

Etude de la formation de Méthylglucoside β au cours de l'hydrolyse par la poudre fermentaire du picéoside en présence d'alcool méthylique

Les expériences précédentes nous ont démontré que le glucose libéré par l'hydrolyse du picéoside se combine à l'alcool méthylique pour donner naissance à une grande quantité de méthylglucoside β . Pour étudier ce phénomène, il faut pouvoir déterminer le méthylglucoside formé. On y arrive aisément en se basant sur les équations suivantes :

Soit une solution renfermant P . de picéoside p. 100 cm³ qui s'hydrolyse en fournissant G . de glucose et M . de méthylglucoside β . Il reste à l'instant considéré p . de picéoside non hydrolysé : la solution présente une déviation polarimétrique de (α) et renferme une quantité de sucre réducteur ($S. R.$). On peut écrire les trois équations suivantes qui permettent de tirer les trois inconnues G . M . et p .

$$(1) \quad G = S. R. - p \times 0,07$$

$$(2) \quad P = p + \frac{G}{0,6} + \frac{M}{0,64}$$

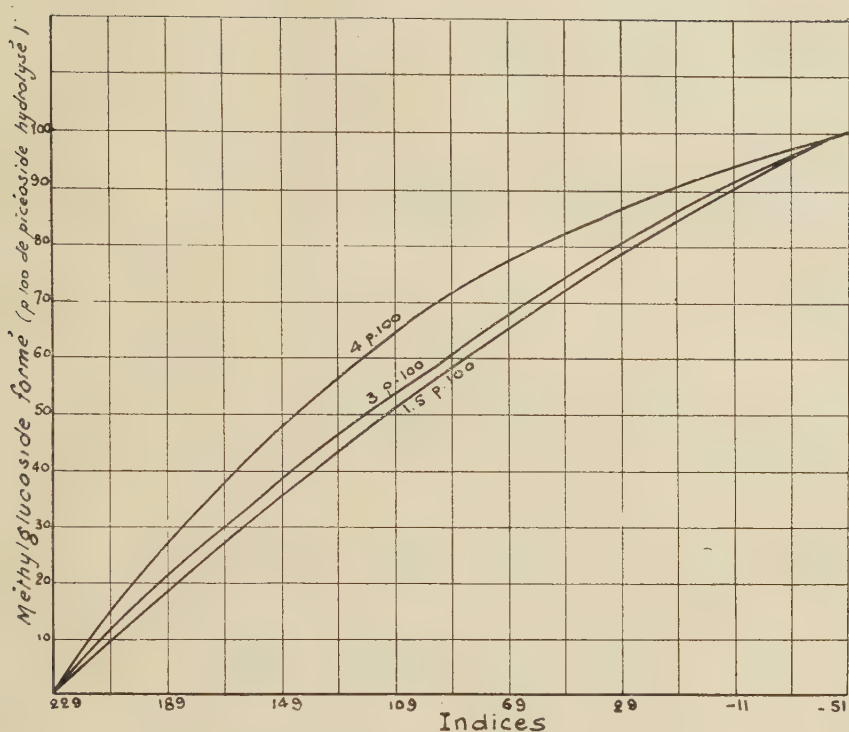
$$(3) \quad (\alpha) = \frac{-87 \times 2 \times p}{100} + \frac{-31^\circ,5 \times 2 \times M}{100} + \frac{+52^\circ,5 \times 2 \times G}{100}$$

Nous possédons trois équations dont nous connaissons P , ($S. R.$) et (α) : il est facile d'en tirer les trois inconnues G , M et p . Nous avons résolu ces équations et elles nous ont donné pour M

$$(4) \quad M = 0,8 P - 1,74 (S. R.) + 0,39 (\alpha)$$

Il est d'ailleurs facile de vérifier cette équation avec des données pratiques comme nous l'avons fait plus haut (v. p. 173).

Cette équation peut être remplacée par une courbe qui nous fournira directement, d'après l'indice observé, la quantité de méthylglucoside β formé pour 100 g. de picéoside hydrolysé. Nous avons construit cette courbe pour une teneur en picéoside de la solution de 3 p. 100 : ainsi que l'indique l'équation (4)



il y aura des courbes distinctes selon les teneurs en picéoside. La courbe construite part de l'indice 230 (indice théorique du picéoside) avec une teneur en méthylglucoside nulle. Pour une quantité de picéoside transformée en méthylglucoside β de :

33 p. 100	$I = 157$
50 p. 100	$I = 118$
66 p. 100	$I = 73$
100 p. 100	$I = -51$

Nous affecterons l'indice de réduction enzymolytique du signe — quand il se produira au cours de l'essai une diminution du sucre réducteur : en effet le picéoside est légèrement réducteur et s'il est entièrement transformé en méthylglucoside β , non réducteur, il y a diminution du sucre réducteur : l'indice est négatif et égal à — 51 quand tout le glucose du picéoside sert à la synthèse du méthylglucoside β .

Nous pouvons par ces deux méthodes calculer à chaque instant la teneur d'un liquide en méthylglucoside β .

TABLEAU I.

Expérience n ^o	1	2	3	4	5	6	7	8
Picéoside	1	1	1	1	1	1	1	1
Eau tolénée en cm ³	33	33	32,5	32,5	33	33	32,5	32,5
Alcool méthylique en cm ³	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5
Ferment	0,10	0,50	0,10	0,50	0,10	0,10	0,10	0,10
Température	34°	34°	34°	34°	45°	55°	45°	55°
Départ ^a	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'
S. R. (p. 100 cm ²)	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214
1 jour ^a	— 3°46'	— 22'	— 3°52'	— 4°24'	— 3°12'	— 3°30'	— 3°8'	— 3°20'
S. R.	0,591	1,373	0,459	0,827	0,713	0,653	0,551	0,504
Indice	230	232	159	153	227	228	148	141
4 jours ^a	— 44'	+ 1°18'	— 1°44'	0°	— 40'	— 4°16'	— 1°16'	— 1°32'
S. R.	1,234	1,761	0,777	1,045	1,260	1,142	0,845	0,782
Indice	219	231	154	154	221	225	153	148
12 jours ^a	+ 54'	+ 1°40'	— 10'	+ 24'				
S. R.	1,671	1,805	0,990	1,097				
Indice	231	226	148	152				
Remarques	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLEAU I (suite).

Expérience n°.....	9	10	11	12	13	14	15	16
Picéoside	1	1	1	1	1	1	1	1
Eau tolénée en cm ³	32,9	32	30	26,4	22	16,5	32	31
Alcool méthylique en cm ³	0,1	1	3	6,6	10	16,5	0	1
Ferment	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Température	34°	34°	34°	34°	34°	34°	34°	34°
Départ ^a	— 5°24', 0,214	— 5°24', 0,214	— 5°24', 0,214	— 5° 0,214	— 5°10', 0,214	— 5° 0,214	+ 24', 6,276	+ 24', 6,276
1 jour ^a	— 3°28', 0,604 202	— 3°40', 0,384 98	— 4° 0,260 33	— 2°52', 0,194 — 9	— 3°32', 0,164 — 30		+ 1°36', 6,554 230	
4 jours ^a	— 42', 1,165 202	— 1°40', 0,586 99	— 2°16', 0,333 38	— 1°56', 0,158 — 18	— 2°42', 0,150 — 26	— 4°52',	+ 5° 7,331 229	+ 3°40', 6,682 124
12 jours ^a	+ 36', 1,418 201	— 26', 0,713 100	— 1°8', 0,370 36	— 1°10', 0,18 — 9	— 1°44', 0,140 — 20		+ 6°24', 7,625 225	+ 5°4', 6,859 125
Remarques	—	—	—	Liquide examiné au bout de 3, 7 et 13 jours.	Liquide examiné au bout de 3, 7 et 13 jours	—	Essai additionné de 2 g. de glucose	Essai additionné de 2 g. de glucose

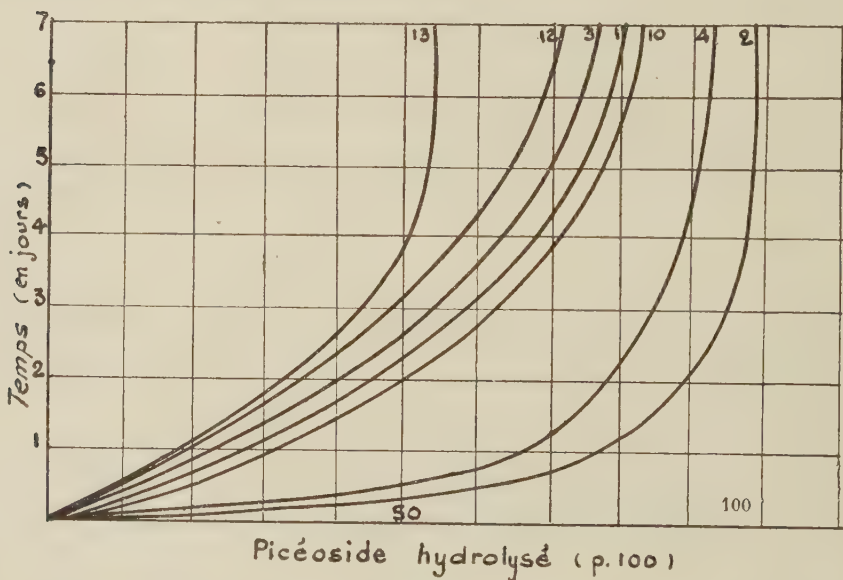
TABLEAU 1 (*fin*).

Expérience n°	26	27	28	29	30	31	32
Picéosite	1	1	1	1	1	1	1
Eau toluénée en cm ³	65	32,5	32,5	32,5	32,5	32,5	32,5
Alcool méthylique en cm ³	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0
Ferment	0,10	0,10 P 4	0,10 P 5	0,10 P 6	0,10 P 7	0,20 Poirier	0,20 Poirier
Température	34°	34°	34°	34°	34°	34°	34°
Départ ^a	— 2°42'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'	— 5°24'
S. R. (p. 100 cm ³)	0,107	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214	0,214
^a	3 jours	— 4°40'	— 5°16'	— 4°34'	— 3°50'	— 4°46'	— 4°46'
S. R.	— 58'	0,316	0,318	0,318	0,451	— 3°24'	— 3°24'
Indice	188	138	133	124	151	158	229
^a		— 2°18'	— 4°48'	— 2°28'	— 1°12'	— 3°24'	— 3°24'
S. R.		0,645	0,294	0,623	0,842	0,530	0,874
Indice		139	133	139	150	158	229
Remarques	Examiné au bout de 3 jours	Examiné au bout de 1 et 5 jours	Examiné au bout de 1 et 5 jours	Examiné au bout de 1 et 5 jours	Examiné au bout de 1 et 5 jours	Examiné au bout de 10 jours	Examiné au bout de 2 et 10 jours

Influence de la quantité de ferment. — Nous avons effectué toutes les expériences suivantes dans des conditions identiques et nous avons toujours comparé à l'hydrolyse normale du picéoside. Pour permettre une lecture polarimétrique plus facile, 10 cm³ de liquide sont déféqués par une goutte d'extrait de Saturne pur et le mélange est filtré.

1 et 2 nous permettent d'étudier l'hydrolyse normale du picéoside en fonction de la quantité de ferment ajoutée : nous avons pensé utiliser une macération aqueuse de poudre fermentaire, plus maniable : nous n'avons pas utilisé cette méthode car les macérations aqueuses sont *presque inactives* sur le picéoside : il semble que le ferment soit solidement lié aux débris cellulaires : il en est de même des oxydases contenues dans cette poudre fermentaire.

Nous voyons que la vitesse d'hydrolyse croît fortement en quintuplant la quantité de ferment (2). Au bout de 12 jours (2) est complètement hydrolysé.



3-4. Les indices de réduction restent à peu près égaux à eux-mêmes au cours de l'hydrolyse et sont voisins de 150. D'après cet indice, p. 100 g. de picéoside hydrolysé, 33 g. sont transformés en méthylglucoside β . Si nous calculons d'après l'équation ci-dessus les proportions de méthylglucoside β formé et de glucose hydrolysé nous avons les chiffres suivants :

	3	4
1 jour	0,09	0,41
4 jours	0,38	0,58
12 jours	0,70	0,64 (théorie p. 33 p. 100 0,64)

Si nous tenons compte du méthylglucoside ainsi formé (rapporté au picéoside qui le fournit) nous voyons que la vitesse d'hydrolyse du picéoside est représentée par les courbes 3 et 4. La vitesse d'hydrolyse du picéoside est légèrement diminuée par l'addition de l'alcool méthylique, mais l'allure générale du phénomène reste la même : l'addition d'une quantité plus grande de ferment augmente nettement la vitesse de réaction *sans toucher cependant à l'équilibre final*.

Influence de la température. — 5 et 6 représentent l'hydrolyse du picéoside aux températures de 45° et 55°. La vitesse initiale d'hydrolyse est légèrement plus forte à 45° qu'à 55°. A 55° la vitesse est, cependant, plus grande qu'à 34°

$$V^{45^{\circ}} > V^{55^{\circ}} > V^{34^{\circ}}$$

Cependant, il semble qu'au bout d'un certain temps les températures de 45° et 55° nuisent au ferment car, au bout de 4 jours à 45°, il y a 69.7 p. 100 de picéoside hydrolysé, 68.3 à 35° et 63.2 seulement à 55°. Les indices de réduction observés sont très voisins de l'indice théorique du picéoside.

7.8 Les indices de réduction enzymolytiques sont voisins de 150 comme dans les expériences 3 et 4. L'équilibre n'est donc pas modifié sous l'action d'une hydrolyse à température plus élevée. La vitesse initiale est un peu plus forte que dans l'expérience comparable (3) effectuée à 34°. La température agissant longtemps sur les ferments exerce également, dans ce cas, une action retardatrice.

Picéoside hydrolysé (p. 100)

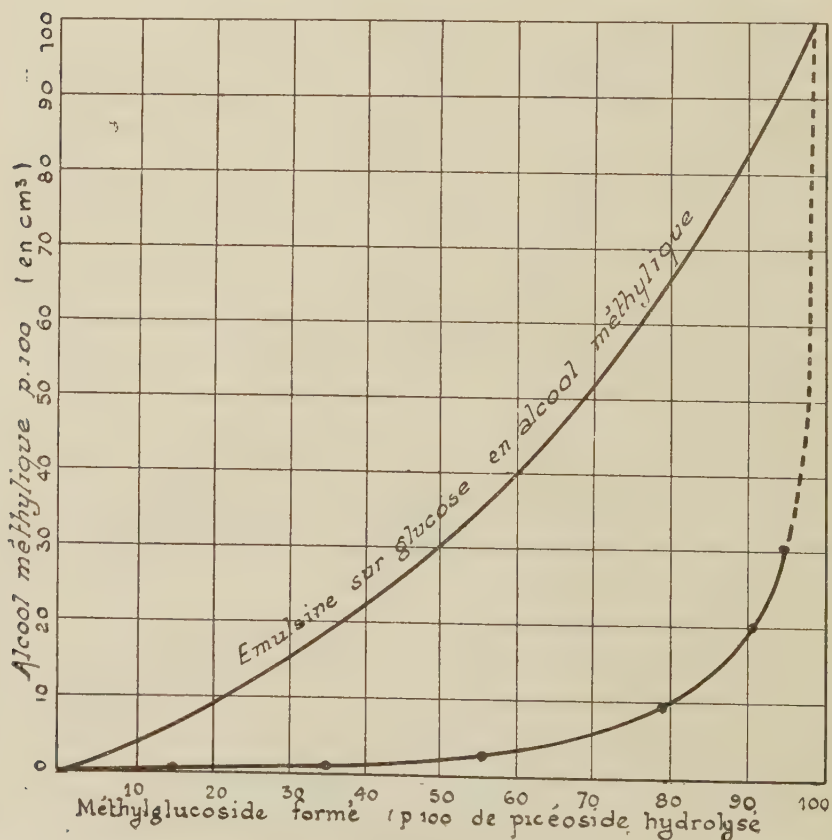
	1	2	3			4			5	6	7			8		
			G	M	T	G	M	T			G	M	T	G	M	T
1 jour ..	32,8	76	25,4	4,7	30,1	46	21,3	67,3	39,6	36	30,6	11,4	42	28,2	11,4	39,6
4 jours .	68,3	97,5	43	19,8	62,8	57,9	30,2	88,1	69,7	63,2	47	22,9	69,9	43,2	22,9	66,1
12 jours .	92,6	99,5	52,2	36,6	88,8	61	33,5	94,5								

Nous avons calculé dans ce tableau la quantité (p. 100) de picéoside hydrolysé (T) en glucose (G) et méthylglucoside β (M).

Dans ces conditions (45° ou 55°) l'hydrolyse est aussi rapide, qu'il y ait ou non de l'alcool méthylique.

Influence de la quantité d'alcool. — Les expériences 9, 10, 11, 12, 13 et 14 ont trait à l'action de proportions variables d'alcool sur la réaction étudiée.

Nous voyons que l'indice de réduction enzymolytique diminue quand la proportion d'alcool augmente dans le mélange : si nous nous reportons à la courbe établissant la relation entre le picéoside transformé en méthylglucoside et l'indice, nous voyons que cette diminution de l'indice correspond à une transformation plus considérable du picéoside en méthylglucoside β . La courbe suivante traduit les résultats obtenus : en ordonnée, les proportions d'alcool méthylique, en abscisse, le méthylglucoside β formé p. 100 de picéoside hydrolysé. Cette courbe est parfaitement régulière.



La quantité de méthylglucoside formé est déjà considérable pour des traces d'alcool méthylique.

0,3 p. 100	16 p. 100	du picéoside hydrolysé sont transformés en méthylglucoside β .
1,5 p. 100	36 p. 100	—
3 p. 100	57 p. 100	—
9 p. 100	78 p. 100	—
20 p. 100	90 p. 100	—
30 p. 100	95 p. 100	—

La synthèse du méthylglucoside β est donc considérable dans ces conditions.

Il est difficile de mesurer les hydrolyses au-dessus d'une teneur de 30 p. 100 en alcool car l'action fermentaire s'arrête presque complètement (exp. 14). Néanmoins, nous avons fini la construction de la courbe en pointillé et nous pouvons admettre que pour de l'alcool méthylique pur, la transformation du picéoside en méthylglucoside β serait intégrale.

Dans l'étude de l'hydrolyse du salicoside, nous avons observé une synthèse considérable du salicylglucoside β (29 p. 100 du salicoside hydrolysé) : le phénomène présente une intensité comparable et semble obéir aux mêmes lois.

Plusieurs conséquences se dégagent de ces résultats : nous avons fait figurer sur le graphique la courbe de synthèse du méthylglucoside β par l'émulsine agissant sur une solution de glucose à 1 p. 100 dans les alcools méthyliques de différents titres. On voit que ces deux courbes sont très différentes.

La courbe représentant les variations de la quantité de méthylglucoside β formé par rapport aux teneurs en alcool des solutions avec, en abscisse, le taux de glucose combiné à l'état de méthylglucoside est superposable à la courbe tracée (rapportée au taux du picéoside hydrolysé).

Dans l'alcool méthylique à 3 p. 100, 57 p. 100 du picéoside sont transformés en méthylglucoside, alors que l'émulsine ne fournit qu'une synthèse de 6 p. 100.

Dans l'alcool méthylique à 9 p. 100, il se forme, dans nos expériences, 78 p. 100 de méthylglucoside, alors que l'émulsine ne provoque la combinaison que de 22 p. 100 du glucose en méthylglucoside.

Dans l'alcool méthylique à 30 p. 100, la poudre fermentaire effectue une synthèse de 95,5 p. 100, l'émulsine de 50 p. 100 seulement,

Des différences aussi nettes nous permettent de penser que les deux réactions sont différentes par les ferments mis en jeu, par la nature des produits fournis à la réaction.

Examinons de plus près ces résultats et comparons les vitesses d'hydrolyse du picéoside.

Expérience	Méthylglucoside formé (p. 100 cm ³)			Picéoside hydrolysé (p. 100) en glucose (G), méthylglucoside (M) et total (T)								
	1 jour	4 jours	12 jours	1 jour			4 jours			12 jours		
				G	M	T	G	M	T	G	M	T
9...	0	0,10	0,16	33,4	0	33,4	64,3	5,2	69,5	78,3	8,3	86,6
3..	0,09	0,38	0,70	25,5	4,7	30,2	42,9	19,8	62,7	52,0	36,5	88,5
10...	0,30	0,73	1,09	21,2	15,6	36,8	32,4	38	70,4	39,4	56,8	96,2
11...	0,39	0,94	1,32	14,3	20,3	34,6	18,3	49	67,3	20,4	68,8	89,2
	3 j.	7 j.			3 j.			7 j.				
12...	0,95	1,38			48,5			71,8				
13...	0,84	1,02			43,7			53,3				

La vitesse d'hydrolyse du picéoside dans les expériences 3, 9, 10 et 11 est à peu près identique à la vitesse observée dans des conditions analogues pour l'expérience 1 (sans alcool méthylique). L'addition de 9 p. 100 d'alcool méthylique au liquide d'hydrolyse (expérience 10) ne semble pas diminuer l'activité des ferments sur le picéoside. Les courbes représentant les hydrolyses au cours de ces expériences (tableau p. 180) se confondent, aux erreurs d'expériences près. Nous avons fait figurer sur le tableau les expériences 10 et 1 : les courbes sont très voisines.

Il n'en est pas de même pour les expériences 12 et 13 qui ferment respectivement 20 et 30 p. 100 d'alcool méthylique : les vitesses d'hydrolyses sont très nettement inférieures à celles que nous avons observées pour les expériences précédentes. De

plus, alors que la vitesse d'hydrolyse pour l'expérience 13 est presque semblable, au début, à celle de l'expérience 12, après 3 jours l'alcool diminue fortement l'activité du ferment et l'hydrolyse ne progresse plus ensuite que lentement : enfin, il faut noter (expérience 13) que l'indice de réduction enzymolytique passe de -30 au bout de 3 jours à -9 au bout de 7 jours : il s'est formé une petite quantité de sucre réducteur : 0,026 entre ces deux expériences : si bien que l'indice partiel est positif : $I = +31$: ceci nous amène à penser que la synthèse du méthylglucoside est retardée par l'action de l'alcool sur les ferments.

Dans le cas de l'alcool méthylique à 50 p. 100 l'hydrolyse est très lente.

EXPÉRIENCES 16 ET 17. — *Que se passe-t-il si l'on ajoute du glucose ordinaire à ce milieu ?*

Nous avons additionné des milieux types, tels que 1 et 3, de glucose (environ 6 p. 100). La lecture polarimétrique et le dosage de sucre réducteur sont effectués après stabilisation de la rotation.

L'indice de réduction enzymolytique de l'essai 16 (sans alcool) est le même que celui du picéoside (230). Au contraire dans l'essai 17 l'indice est de 125 : dans l'essai 3 l'indice est voisin de 150 : il semble bien que l'addition de glucose influe sur l'équilibre, mais cette influence est *très légère* : des quantités de glucose ordinaire plus de trois fois supérieures à celles que fournit l'hydrolyse du picéoside, ne changent que fort peu l'équilibre. Cependant, la vitesse d'hydrolyse est légèrement diminuée.

EXPÉRIENCES 17 ET 18. — *Que se passe-t-il si l'on ajoute l'alcool méthylique au cours de la réaction ?*

Dans l'expérience 17, on ajoute à un système identique à 1, 0,5 d'alcool méthylique, au bout de 4 jours : l'indice de réduction est, avant l'addition, de 229 (picéoside 230) ; 8 jours après, si nous calculons l'indice partiel, nous constatons qu'il est de 145, tout à fait proche de celui observé dans les expériences 3, 4, 7 ou 8.

EXPÉRIENCES 19, 20, 21 ET 22. — *Est-il possible de combiner d'autres alcools que l'alcool méthylique ?*

On observe des phénomènes analogues pour le saligénol, puisque nous avons pu isoler le *salicyl-d-glucoside* β .

Dans les expériences 19, 20, 21 et 22 nous avons employé des alcools primaires ou secondaires.

1° L'alcool isopropylique permet d'observer un indice de 210 en moyenne ; il y a certainement une combinaison, mais celle-ci est beaucoup moins intense que pour l'alcool méthylique.

2° L'alcool amylique primaire normal nous fournit un indice de 188. La combinaison a certainement lieu dans ce cas : elle est probablement aussi intense que dans le cas de l'alcool méthylique mais des expériences nouvelles, plus approfondies, sont nécessaires, le volume d'alcool ajouté étant le même que pour l'alcool méthylique : les poids moléculaires de ces deux alcools sont très différents et la concentration moléculaire n'est pas la même.

21 et 22. — La synthèse des glucosides β des alcools amylique secondaire et cyclyque secondaire est certainement fort peu intense, les indices de réduction ne s'écartant que très peu de celui du picéoside.

Alcool benzylique. — Nous avons étudié un peu plus longuement l'alcool benzylique, très voisin de l'alcool salicylique. Les expériences ont été conduites ainsi.

Une solution de picéoside (2 g. dans 50 cm³) est additionnée de 2 cm³ d'alcool benzylique et de 0 g.,20 de poudre fermentaire.

	Déviatiôn	Sucre réducteur	Indice
Au départ.....	— 7°	0,28	—
Après 5 jours....	— 5°8'	0,509	120
— 12 — ...	— 4°4'	0,656	127
— 23 — ...	— 3°38'	0,727	131
— 55 — ...	— 3°14'	0,811	140

Nous voyons que l'indice est, dans ce cas également, fortement abaissé (de 230 à 130) par l'addition d'alcool benzylique : par analogie avec ce que nous avons montré plus haut, on peut penser qu'il se forme dans ce cas du benzylglucoside β . La formation de ce produit tend à abaisser l'indice de réduction enzymolytique ainsi que le montre aisément le calcul. La courbe (v. p. 172)

à 4 p. 100. L'abaissement de l'indice à 130 nous prouve que 52 p. 100 du picéoside hydrolysé sont transformés en benzylglucoside β ($[\alpha]_D = -49^\circ 2$), soit une synthèse à peu près équivalente à celle méthylglucoside pour une concentration moléculaire semblable. A la fin de l'hydrolyse, l'indice s'élève légèrement (indice partiel = 210), car l'hydrolyse du benzylglucoside β devient prépondérante, le picéoside étant totalement hydrolysé (indice de réduction du benzylglucoside = 408).

En résumé, la réaction de synthèse se produit avec une forte intensité quand la fonction alcool est primaire : pour la fonction alcool secondaire, la combinaison a certainement lieu également, mais l'état d'équilibre ne correspond qu'à une faible quantité de glucoside synthétisé. Nous n'avons pas essayé de synthèse avec une fonction alcool tertiaire.

EXPÉRIENCES 23, 24. — *Que se passe-t-il quand on ajoute de l'émulsine au système diastasique défini plus haut ?*

Nous avons ajouté à des systèmes identiques à 1 et 3, 0.05 d'émulsine peu active ; le lendemain, l'essai 23 (sans alcool méthylique), nous a permis de calculer un indice de 236. L'essai 24 (avec alcool méthylique) fournit un indice de 199. Dans l'expérience (3), l'indice est de beaucoup inférieur (150) : le rendement de la réaction pour l'essai 24 est moins bon.

Il faut noter que l'émulsine hydrolyse assez rapidement le méthylglucoside β : le ferment employé dans cet essai a été étudié (v. p. 159). Dans ces conditions, l'hydrolyse du méthylglucoside β est au maximum de 15 p. 100.

EXPÉRIENCE 25. — *Influence du méthylglucoside β .*

Nous avons ajouté, dans l'essai n° 25 comparable à l'essai n° 3, 1 g. de méthylglucoside β . L'indice obtenu est dans ce cas plus élevé (170 au lieu de 150). L'addition de méthylglucoside β diminue le taux de méthylglucoside β formé sous l'action de la poudre fermentaire.

EXPÉRIENCE 26. — *Influence de la dilution.*

L'essai n° 26 est aussi analogue à l'essai n° 3 mais le titre de la solution est amené au demi par addition d'eau. Dans ce cas l'indice observé est de 188. L'addition d'eau diminue la synthèse du méthylglucoside β .

EXPÉRIENCES 27, 28, 29, 30. — *Essais des poudres fermentaires de Salix purpurea P⁴ P⁵ P⁶ P⁷.*

Les essais précédents ont tous été effectués avec la poudre fermentaire P³. Nous avons effectué des essais semblables avec les poudres P⁴ P⁵ P⁶ P⁷. Essais n^{os} 27, 28, 29, 30.

Les poudres fermentaires P⁴ P⁵ et P⁶ fournissent des indices de réduction compris entre 130 et 140 tandis que la poudre P⁷ qui hydrolyse le picéoside avec une vitesse analogue à celle de la poudre P³ fournit un indice de 150 identique à celui mesuré avec la poudre P³.

EXPÉRIENCES 31, 32. — *Peut-on remplacer la poudre fermentaire de Salix purpurea par une autre poudre fermentaire.*

Nous avons prélevé au mois d'août des feuilles de poirier, choisies parce qu'elles contiennent un hétéroside phénolique (arbutoside). Elles sont desséchées à l'étuve, ce qui ne provoque aucun noircissement, pulvérisées, épuisées par deux macérations de 3 heures avec 5 volumes d'alcool à 85°, essorées puis lavées rapidement à l'éther. La poudre est alors desséchée à l'étuve à 34°.

Si nous nous reportons aux essais 1 et 3 qui sont comparables on constate :

1° L'activité de la poudre fermentaire de poirier sur le picéoside est beaucoup moins grande que celle de *Salix purpurea* ;

2° En l'absence de l'alcool méthylique, l'indice observé est celui du picéoside ;

3° En présence d'alcool méthylique, l'indice observé est de 158, très voisin de celui observé dans l'essai 3.

La poudre fermentaire de poirier possède donc des propriétés analogues à celles de *Salix purpurea* quoique moins intenses.

Nous étudierons bientôt d'autres végétaux à ce point de vue.

*
**

Comment interpréter toutes ces expériences :

1° La poudre fermentaire de feuilles de *Salix purpurea* hydrolyse le picéoside (ou les glucosides de phénol) selon la réaction normale. Indice de réduction 230.

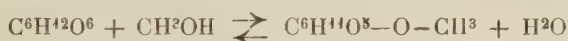
2° L'émulsine hydrolyse également le picéoside selon la réaction normale,

3° Si l'on ajoute au milieu un alcool primaire (salicylique, benzylique, méthylique, propylique, amylique N), l'indice change dans le cas de l'hydrolyse par la poudre fermentaire par formation d'un glucoside β d'alcool primaire : il ne change pas en présence d'émulsine.

4° La poudre fermentaire hydrolyse très rapidement le picéoside, très lentement le méthylglucoside β et les glucosides d'alcools.

5° La poudre fermentaire n'effectue pas (ou très peu) la synthèse du méthylglucoside β ou du salicylglucoside β en partant de l'alcool et du glucose : l'émulsine effectue cette synthèse avec un rendement *très faible*.

6° La synthèse des glucosides d'alcools par la poudre fermentaire est très intense pour de faibles quantités d'alcool : un pourcentage d'alcool de 3 p. 100 permet de transformer 57 p. 100 du glucose libéré par l'hydrolyse du picéoside en glucoside d'alcool. Dans les mêmes conditions, l'état d'équilibre du glucose dans l'alcool méthylique en présence d'émulsine ne correspond qu'à une synthèse de 6 p. 100 : les équilibres sont très différents : *les réactions doivent être également différentes* : si les produits présentés à l'action des ferments et les produits synthétisés sont les mêmes, les réactions doivent être identiques



Nous sommes donc conduits à admettre que l'un des produits de la réaction est différent ; notre choix s'est porté sur la molécule de glucose, et nous pensons que le glucose, libéré sous l'action de la phénolglucosidase β , est différent du glucose ordinaire. *Cé glucose naissant* réagit avec intensité sur l'alcool, grâce à une ase spéciale contenue dans la poudre fermentaire : en effet, l'émulsine ne fournit pas d'alcool glucoside β au cours de l'hydrolyse du picéoside en présence d'alcool méthylique : on peut objecter que le méthylglucoside β formé est aussitôt hydrolysé par l'alcool glucosidase β que ce ferment renferme en quantités importantes : je ne pense pas qu'il en soit ainsi, puisque l'émulsine, hydrolysant le picéoside additionné d'alcool méthylique en même temps que la poudre fermentaire, *n'empêche pas la synthèse du méthylglucoside β* par ce produit fermentaire (exp. 23-24).

On peut penser également à la présence dans la poudre fermentaire d'une ase plus active que l'émulsine au point de vue synthétisant : les ases se comportent en général comme des cata-

lyseurs et si elles sont capables d'accélérer une réaction, elles ne peuvent changer l'équilibre du système : l'ase peut être différente de la phénol ou de l'alcool glucosidase β .

7° L'ase spéciale qui effectue cette synthèse ne touche pas au glucose ordinaire : le glucose β naissant se transforme très rapidement en glucose ordinaire (mélange de α et β glucose) et la synthèse des alcools glucosides par la poudre fermentaire ne peut s'effectuer que si l'alcool est présent dans le milieu *au moment même de l'hydrolyse*. Les expériences 17 et 19 nous démontrent que, si on ajoute l'alcool méthylique au cours de l'hydrolyse, seul est utilisé pour la synthèse, le glucose qui sera libéré : le glucose déjà libéré ne rentre plus en réaction : il a déjà acquis la forme inerte, ordinaire.

De plus, l'addition de grandes quantités (6 p. 100) de glucose ordinaire ne semble influencer que fort peu sur l'état d'équilibre.

8° Les alcools secondaires se combinent moins facilement que les alcools primaires : nous effectuerons bientôt l'étude complète de cette réaction qui demande la préparation de grosses quantités de picéoside ou d'un glucoside de phénol.

Les phénols ne semblent pas se combiner.

9° Il est possible de remplacer la poudre fermentaire par d'autres préparations ou par la poudre fermentaire de feuilles de poirier qui semble jouir des mêmes propriétés, quoique beaucoup moins intenses. Des essais sont entrepris sur d'autres organes végétaux.

Comment s'effectue cette synthèse ? Il me semble difficile de ne pas admettre la présence dans cette poudre fermentaire de deux ferments : une *phénolglucosidase* β et une *alcoolglucosidase* β .

La *phénolglucosidase* β contenue dans les feuilles hydrolyse le picéoside en picéol que l'on retrouvera *intégralement* en fin de réaction et en *glucose naissant*.

La poudre fermentaire renferme une ase qui ne se rencontre pas dans l'émulsine des amandes ; est-ce l'alcoolglucosidase β ? Je ne puis le certifier. En sa présence, le glucose naissant réagit sur l'alcool primaire contenu dans le milieu et donne naissance à un alcool glucoside β .

Cette réaction est une réaction d'équilibre qui peut s'écrire :



Je n'ai pu établir les équations de VANT'HOF, ces expériences comportant une certaine imprécision : l'indice observé est certainement affecté par l'hydrolyse irréversible, très lente, de l'alcool glucoside β formé. Néanmoins, si l'on augmente la concentration en picéoside (et en partant le taux du glucose naissant) le système réagit dans le sens qui s'oppose à la variation qu'on lui fait subir (LE CHATELIER) : il se forme de l'alcool glucoside β en quantités plus importantes.

Si l'on ajoute plus d'alcool, il en est de même (expériences 3, 9, 10, 11, 12, 13).

Inversement, l'addition d'eau provoque une variation de l'équilibre en sens inverse (expérience 25) : il en est de même par addition au système d'alcool glucoside β (expérience 26).

Cette réaction est également sous la dépendance de la réaction irréversible glucose naissant $\longrightarrow$ glucose (α et β), le glucose ordinaire (α et β) étant incapable de réagir, comme nous l'avons démontré.

Quelle est la nature du glucose qui se forme au cours de cette hydrolyse ? On sait seulement que, dans les glucosides comme le salicoside ou le picéoside, le glucose est sous la forme d'un β *pyranose*. Je ne sais si l'ose, au cours de l'hydrolyse, subit une modification de structure chimique : j'ignore la nature de cette modification.

Conséquences physiologiques de ces résultats.

Em. BOURQUELOT et ses élèves ont, il y a une vingtaine d'années, réussi de nombreuses synthèses de glucosides d'alcools ou de bioses sous l'influence des ferments. Ces expériences peuvent elles expliquer la synthèse des glucides complexes chez les végétaux, en admettant que soient formés dans un premier temps l'ose et le produit qui doivent se combiner.

1° Nous savons qu'il n'est pas possible d'effectuer, par voie biochimique, la synthèse des hétérosides de phénols : en effet la réaction de synthèse qui fournit un rendement intéressant dans le cas des alcools primaires, ne donne plus que de faibles quantités d'hétéroside pour les alcools secondaires et on ne peut déceler de synthèse pour les alcools tertiaires ou les phénols. Les hétérosides de phénols se rencontrent presque exclusivement dans la nature.

Cependant, il existe un certain nombre d'hétéroside d'alcools chez les végétaux. Citons par exemple, le méthylglucoside β (de

la Scabieuse), le gauthérioside (de la Gaulthérie). De même les hétérosides de fonctions alcooliques secondaires se rencontrent dans la molécule des hétérosides cyanhydriques.

2° Les synthèses fermentaires jusqu'alors effectuées, fournissent des rendements très faibles quand on opère dans des solutions faiblement concentrées en ose et en alcool (6 p. 100 du glucose sont seulement transformés en hétérosides dans l'alcool méthylique à 3 p. 100).

Le phénomène de synthèse fermentaire que j'ai décrit permet d'effectuer des synthèses biochimiques de glucosides d'alcools dans des conditions excellentes. En effet, nous avons vu que pour une teneur en alcool méthylique de 3 p. 100, 57 p. 100 du glucose sont transformés en méthylglucoside β .

Le rendement de la réaction est infiniment meilleur et les concentrations en oses et en alcool ne sont pas incompatibles avec les conditions vitales.

Peut-on généraliser ce phénomène ? La plupart des réactions biologiques qui utilisent des sucres doivent mettre en jeu des glucides sous la forme naissante que nous avons pu saisir dans le cas de l'hydrolyse du picéoside ou du salicoside. Ceci expliquerait peut être les difficultés que rencontrent beaucoup d'auteurs pour des synthèses biochimiques de glucides complexes. Des essais en cours nous montreront si la généralisation de ce phénomène peut être tentée.

Si le processus synthétique que nous avons découvert permet d'expliquer la formation des hétérosides d'alcool, *il ne permet pas d'effectuer la synthèse des glucosides β de phénol*. Le processus de synthèse de ces hétérosides découle peut-être, d'un phénomène semblable : il est possible que le phénol soit, comme l'ose, à l'état naissant ; aucune expérience ne me permet encore de vérifier cette hypothèse.

Analogie avec la lipase du Ricin. — Les ases de la poudre fermentaire que nous venons d'étudier présentent quelques curieuses analogies avec la lipase du ricin.

1° On sait que la lipase est insoluble dans le milieu où elle effectue sa synthèse ou son hydrolyse : c'est, ainsi que l'a fait ressortir dernièrement M. M. NICLOUX (Congrès de Chimie Biologique, Paris 1933), un « ferment soluble insoluble ».

On sait également que l'émulsine effectue fort bien la synthèse des glucosides d'alcools, bien qu'elle soit insoluble dans le milieu ; mais l'émulsine est soluble dans l'eau ; alors que les

ases de la poudre fermentaire de *Salix purpurea* (hydrolases ou oxydases) n'y sont que fort peu ou pas du tout solubles.

2° La lipase du ricin, ainsi que l'a récemment montré M. L. VELLUZ (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 16, 1934, 911), effectue certaines synthèses avec un rendement excellent : si l'on place une molécule d'acide oléique, et une molécule d'alcool phényléthylque en présence de lipase, il se forme très rapidement 82 p. 100 d'oléate de phényléthyle. Au contraire, l'hydrolyse de l'oléate de phényléthyle demande un temps beaucoup plus long pour aboutir au même équilibre.

Dans l'étude que nous venons d'effectuer, nous avons vu les rendements importants en méthylglucoside que l'on obtient rapidement : en quelques jours 95 p. 100 de glucose libéré par l'hydrolyse du picéoside sont transformés en méthylglucoside β dans l'alcool méthylique à 30 p. 100 ; de plus, alors que la synthèse est très rapide, l'hydrolyse du méthylglucoside β par la poudre fermentaire est extrêmement lente.

Il existe cependant des différences dans les processus biologiques de ces deux réactions fermentaires : ainsi, la lipase utilise des corps sous leur forme ordinaire ; la poudre fermentaire de *Salix purpurea* utilise du *glucose naissant* et se montre inapte à utiliser le glucose ordinaire.

CONCLUSIONS. — Nous avons montré comment la poudre fermentaire de feuilles de *Salix purpurea* hydrolyse une solution de salicoside en glucose et saligénol, et comment elle effectue la synthèse de salicylglucoside β (30 p. 100 du salicoside mis en œuvre).

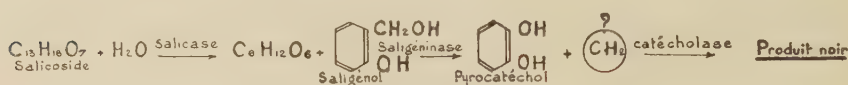
Pour expliquer ce phénomène, nous avons étudié l'action de cette poudre fermentaire sur le picéoside en présence d'un alcool, dans diverses conditions expérimentales. Nous avons démontré que, dans ces conditions, il se fait une synthèse très importante d'alcool glucoside (57 p. 100 dans l'alcool méthylique à 3 p. 100) ; que cette réaction est différente de la réaction de synthèse de l'émulsine agissant sur un mélange de glucose et d'alcool, et que l'on peut admettre que le glucose libéré par l'hydrolyse du picéoside est sous un état différent du glucose ordinaire inapte à réagir. Nous avons nommé cette forme *glucose naissant* sans que nous sachions quel schéma de constitution lui attribuer.

Nous avons montré l'importance biologique de ces résultats au cours des réactions vitales et les analogies de ce processus fermentaire avec les synthèses effectuées par la lipase du ricin.

II. — OXYDASES.

Oxydation du salicoside par la poudre fermentaire de *Salix purpurea* L.

Nous avons vu plus haut que Th. WEEVERS admet le dédoublement du salicoside par la salicase des feuilles ; le saligéninase transforme le saligénol en catéchol ; la catécholase oxyde le catéchol et le produit d'oxydation est coloré en noir. Le schéma de ces réactions est le suivant :



Nous nous sommes attachés à étudier ces réactions en détail.

Nous avons vu que, dans les feuilles, il existe bien un ferment dédoublant le salicoside en *glucose* et *saligénol*.

Th. WEEVERS admet alors implicitement la présence d'une ou plusieurs oxydases ; j'ai vainement cherché dans ses travaux la preuve formelle de leur existence ; pour qu'une oxydase entre en jeu, il faut avant tout qu'il y ait *fixation d'oxygène*. Les feuilles d'*Aucuba* noircissent, sans qu'il y ait besoin d'oxygène. Est-ce que les feuilles de *Salix purpurea* fixent de l'oxygène sur le saproduit à l'ébullition du salirétol, polymère du saligénol. Ceci n'est pas invraisemblable puisque l'acide sulfurique dilué produit à l'ébullition du salirétol, polymérie du saligénol. WEEVERS constatant le noircissement du pyrocatechol sous l'influence du produit fermentaire extrait du *Salix purpurea* en a conclu à une oxydation ; il peut aussi, dans ce cas, y avoir polymérisation. Cependant les expériences suivantes vont nous montrer qu'il n'y a pas polymérisation, mais fixation d'oxygène : c'est donc bien une *oxydase* qui agit.

EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES. — 1. Nous avons remarqué au cours des essais d'hydrolyse du salicoside par les produits fermentaires que les poudres surnageant la solution de salicoside, en contact avec l'air du flacon, se colorent seules en noir.

2° 10 cm³ de liquide fermentaire P. 1 fraîchement préparé est additionné de 5 gouttes de teinture de Gaïac fraîchement préparée. On n'observe aucune coloration ; il se forme une coloration bleue par addition de 1 goutte d'eau oxygénée. 10 cm³ de P. 1 sont additionnés

de 5 gouttes de solution alcoolique de benzidine. Rien. Coloration bleue intense par addition de 1 goutte d'eau oxygénée.

10 cm³ de P. 1 sont additionnés de tyrosine : Rien.

Une solution de P. 2, une macération de quelques minutes des produits P. 3, 4, 5, 6 ou 7 fournissent les mêmes résultats. Nous avons vérifié, ainsi que l'a constaté WEEVERS, que ces poudres renferment une catalase active.

Les divers produits fermentaires retirés du *Salix purpurea* ne présentent ni les réactions typiques de la tyrosinase ni celles de la laccase. Cependant, la réaction des peroxydases a toujours été positive. WEEVERS indique l'absence de la peroxydase. Nos résultats infirment donc les siens sur ce point.

Absorption d'oxygène. — Nous avons voulu voir s'il s'agissait vraiment d'une oxydase.

1° Une solution aqueuse de saligénol se conserve indéfiniment à l'air sans présenter la moindre coloration.

2° Une solution de salicoside mise en présence d'une suspension de P. 6 chauffée à 100° pendant une minute ne subit aucune transformation. On n'observe aucun noircissement si on ajoute à ce liquide de l'émulsine des amandes, bien que le saligénol soit libéré.

3° La poudre fermentaire mise en présence d'eau toluénée ne donne lieu à aucun noircissement.

4° L'expérience prouvant la nécessité de l'air ou plus spécifiquement de l'oxygène, consiste à introduire dans un ballon de 50 cm³, 1 g. de P. 6, 20 cm³ de solution de salicoside à 4 p. 100 et 10 gouttes de toluène ; le ballon est aussitôt soudé au moyen de cire de Golaz à la trompe à mercure. Le vide est alors effectué et le col du ballon est scellé au chalumeau : le mélange est placé à l'étuve à 30° pendant 5 jours : le ballon est ouvert.

a) *Odeur* : ne présente pas l'odeur du saligénol oxydé (voir plus loin ;

b) *Coloration* : n'a pas changé ; la poudre fermentaire est toujours aussi verte.

c) Le liquide est rapidement filtré et la poudre fermentaire est soigneusement lavée. Le liquide est agité à l'éther (4 fois 30 cm³) qui est évaporé dans une capsule ; on obtient du saligénol pur. Les eaux-mères ne présentent pas de coloration avec Cl³Fe dilué. Elles sont déféquées par 1 cm³ d'extrait de Saturne. La solution déféquée renferme du glucose ; nous avons examiné les particularités de l'hydrolyse du salicoside (v. p. 165).

Cette expérience prouve :

a) Que l'hydrolyse est beaucoup plus rapide dans ces conditions ;

b) Que le saligénol n'est pas transformé en catéchol.

En effet, nous avons signalé que la formation d'un composé noir par oxydation du saligénol gênait considérablement la réaction. En 5 jours, la poudre 6 employée n'hydrolysait que 75 p. 100 du salicoside (v. p. 157) ; ici l'hydrolyse est presque totale.

Conséquence. — La transformation du saligénol en catéchol, ne peut s'effectuer, si elle se produit, qu'en présence de l'oxygène ; le phénomène consisterait en une première oxydation. Si nous plaçons une solution de catéchol dans des conditions identiques à celles de l'expérience précédente, on constate que le catéchol n'est pas altéré dans le vide en présence de la poudre fermentaire : l'oxygène est donc nécessaire pour le deuxième temps de la réaction, noircissement du catéchol par oxydation ainsi que le pense Th. WEEVERS.

Mesure de l'absorption de l'oxygène. — Nous avons d'abord employé un appareillage très simple qui nous a donné quelques résultats intéressants mais que nous avons abandonné pour les nombreux échecs qu'il entraîne. M. le Professeur G. BERTRAND nous a vivement conseillé l'emploi, en apparence plus compliqué, mais combien plus sûr, de la méthode utilisée dans ses travaux classiques sur la laccase (1, 2, 3).

Nous décrirons les résultats obtenus tout d'abord : puis nous décrirons brièvement la technique préconisée par M. G. BERTRAND auquel nous n'avons, d'ailleurs, apporté aucune modification.

L'appareil employé est constitué de la façon suivante :

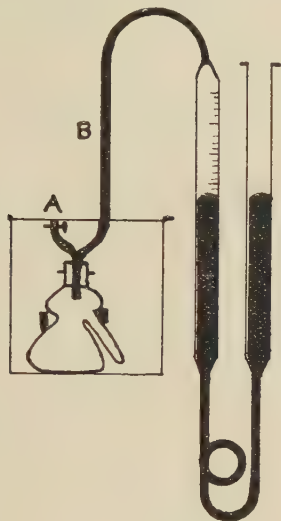
Le vase à réaction possède un appendice. Il est maintenu par une bague de plomb au fond d'un vase de 6 litres rempli d'eau. Il communique d'une part à une pince fermant hermétiquement le tube A, d'autre part, par le tube B et un tuyau de caoutchouc, avec un tube gradué de 150 cm³ rempli de mercure. Le tube non gradué lui est

(1) G. BERTRAND. — Recherches sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin. *Bull. Soc. Chim.*, 1894 (3), **11**, 717.

(2) G. BERTRAND. — Sur le pouvoir oxydant de la laccase. *Bull. Soc. Chim.*, 1895 (3), **13**, 361.

(3) G. BERTRAND. — Sur la recherche et la présence de la laccase dans les végétaux. *Bull. Soc. Chim.*, 1895 (3), **13**, 1095.

réuni par un tube de caoutchouc fort. Toutes les jonctions sont soigneusement ligaturées au fil de fer, puis, enduites de cire de Golaz. Le tout est placé en un lieu à température fixe (cave). Un thermomètre et un baromètre à mercure permettront d'effectuer toutes les corrections. Un cathétomètre permet de ramener exactement le niveau du mercure dans un même plan pour les deux tubes.



J'ai monté 7 appareils semblables ; ainsi que je le signalais, malgré toutes les précautions prises les fuites ont lieu au bout d'un certain temps, l'opération étant de très longue durée.

J'ai d'abord comparé les diverses poudres fermentaires P. 3, P. 6, P. 7. La poudre P. 6 s'est montrée un peu plus active que les autres. Nous l'avons employée dans l'expérience suivante que nous décrirons en détail.

Le volume du flacon à réaction et du tuyau de communication avec la jauge sont mesurés.

On introduit dans la tubulure latérale, avec un entonnoir, 0 g.,50 de P. 6. Dans le flacon, on verse 10 cm³ de solution de salicoside à 4 p. 100 et quelques gouttes de toluène. Le flacon à réaction est hermétiquement fermé. En soulevant et abaissant le tube, on chasse l'air par le robinet A et on le remplace par de l'oxygène (de l'oxylythe). Cette opération de purge est répétée 5 fois. La plus grande partie de l'air est remplacée par O².

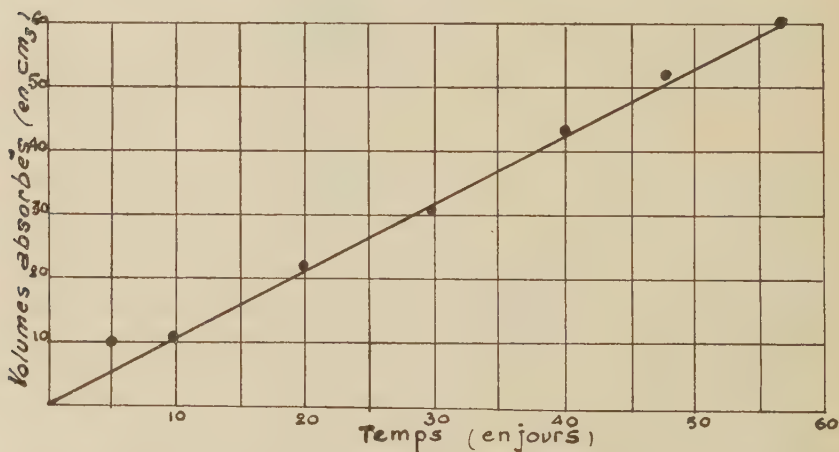
Le niveau du mercure est amené aux environs de la division O. Le flacon est immergé dans l'eau. On s'assure qu'il n'y a pas de fuite en exerçant une pression de 20 cm. de mercure. Au bout de 2 jours le volume est lu et comparé au volume primitif, ramené à 0° et 760

mm. Le salicoside est alors mélangé par retournement à la poudre fermentaire ; le mélange est agité fréquemment ; les lectures sont effectuées tous les jours. Les volumes sont ramenés à 0° et 760 mm. : la courbe ci-dessous exprime les résultats.

Au bout de 56 jours la réaction n'est pas encore terminée.

Remarquons que l'absorption de O_2 ne dépend pas, à première vue, de la pression de l'oxygène. En effet, la vitesse d'absorption est la même qu'on exerce une pression de 20 cm. de Hg ou une dépression du même ordre.

La vitesse d'absorption semble plus rapide dans les premiers jours ; elle se ralentit et devient sensiblement constante au bout de 10 jours. Les gaz du flacon sont extraits au bout de 56 jours au moyen de la trompe à mercure, et recueillis. Leur analyse prouve qu'il n'y a pas ou très peu de CO_2 (moins de 1 p. 100 du gaz recueilli).



Le liquide imprégnant la poudre fermentaire, maintenant colorée en noir foncé, possède une odeur forte rappelant celle de l'aldéhyde salicylique ; il est filtré (1). La poudre fermentaire est lavée soigneusement à l'eau, les liqueurs aqueuses sont réunies et agitées à l'éther à plusieurs reprises. L'évaporation de l'éther fournit 0 g.,02 de cristaux fondant à $+ 84^\circ$, c'est du saligénol pur. La liqueur aqueuse présente une déviation dextrogyre, elle est réductrice et renferme 0 g.,25 de sucre réduc-

(1) Le liquide filtré est légèrement jaune : le produit noir s'est fixé sur la poudre fermentaire ; il semble, d'ailleurs, que le ferment oxydant reste *attaché à la poudre* : une macération de poudre ne produit pas de noircissement sensible du salicoside ou du saligénol alors que la poudre épuisée par l'eau conserve cette propriété.

Les rodages sont immédiatement soudés avec de la cire de Golaz. On plonge chaque ballon dans un bain-marie à 35° et on fait rapidement le vide avec la trompe à eau pour chasser les gaz dissous. On laisse rentrer l'air et on maintient à une température fixe pendant 1/4 d'heure. Au bout de ce temps chacun des ballons est fermé ; on fait le vide avec la trompe à mercure dans la canalisation. Puis, ouvrant le robinet du ballon, on recueille le gaz, on le mesure ; on a ainsi le volume de gaz contenu dans le ballon. Il est alors mis en communication avec un appareil à oxygène. On le remplit de ce gaz et le ballon est abandonné à une température fixe pendant 1/4 d'heure. On ouvre alors le ballon pour égaliser la pression intérieure à la pression atmosphérique. Le ballon est aussitôt fermé et mis à la roue hydraulique pendant 5 jours. On extrait alors les gaz et on les analyse. Le ballon vide est à nouveau rempli d'oxygène qui agit à la roue hydraulique pendant 8 jours. Les résultats des mesures sont consignés dans le tableau suivant après toutes corrections utiles.

Durée de la réaction	5 jours		13 jours	
	O ² absorbé	CO ² dégagé	O ² absorbé	CO ² dégagé
Témoin.....	1,4	0	1,4	0
Pyrocatéchol..	11,2	1,8	16,8	6,8
Hydroquinone..	27,2	4,16	35,1	9,6
Pyrogallol....	21,5	10,3	24,2	14,1
Saligénol....	30,0	1,60	34,5	2,0
Salicoside....	11,5	1,6	15,7	2,0

1. Il y a eu une absorption insignifiante de O² dans le flacon témoin. Le contenu du ballon n'a pas changé d'aspect.

2. La solution de pyrocatéchol noircit rapidement (12 h.). La quantité de CO² dégagée par cette oxydation est importante (6,8) le liquide oxydé ne possède pas d'odeur spéciale.

3. L'hydroquinone est oxydé ; le contenu du ballon prend une teinte noire rougeâtre. La quantité de CO² dégagée est importante (9,6).

4. La solution de pyrogallol est colorée en brun au bout de 12 h. Le dégagement de CO² est très important (14,1).

5. La solution de saligénol noircit en moins de 12 h. A la fin de l'essai, le liquide présente une odeur forte spéciale. L'absorption d'oxygène est considérable pendant les 5 premiers jours (30 cm³). La quantité de CO² dégagé est très faible.

Au bout de 13 jours une molécule de saligénol absorbe plus d'une molécule d'oxygène.

6. La solution de salicoside noircit en moins de 12 h. le liquide présente également l'odeur spéciale notée pour le saligénol ; la quantité d'oxygène absorbée au cours de cette expérience est de 15 cm³, 7. La quantité de CO² dégagée est très faible.

DISCUSSION. — Alors que, dans le liquide témoin, nous n'avons noté que des changements insignifiants, les autres liquides ont vu se manifester des oxydations variables en intensité et en nature.

1° L'absorption de O² est générale pour tous les corps étudiés ; cependant, il faut remarquer l'énorme absorption d'oxygène effectuée par le saligénol (30 cm³ en 5 jours). Pendant ce temps, la solution de pyrocatechol n'en absorbe que 11 cm³.

2° Le dégagement de gaz carbonique est variable. Il est très faible dans le cas du saligénol et dans celui du salicoside (2 cm³ en 13 jours) il est beaucoup plus important pour le pyrocatechol (6 cm³, 8) et il devient considérable dans le cas de l'hydroquinone (9,6) et surtout du pyrogallol (14 cm³ de CO² dégagé pour 24,2 de O² absorbé).

M. G. BERTRAND a déjà noté cet important dégagement de CO² par le pyrogallol sous l'influence de la laccase. Les ferments oxydants du *Salix purpurea* se comportent d'une façon semblable à la laccase vis-à-vis du pyrogallol. Cependant, ils doivent en être différents, car nous n'avons observé de coloration de la teinture de Gaïac qu'en présence d'eau oxygénée.

3° L'absorption d'oxygène est très rapide au début ; elle se ralentit considérablement par la suite. Je pense que les produits d'oxydation entravent l'action des ferments. De plus, sauf dans le cas du salicoside et dans celui du saligénol la quantité de CO² dégagé du 5^e au 13^e jour est plus considérable par rapport à l'oxygène absorbé.

4° Le contenu du ballon de saligénol oxydé est filtré ; le précipité est soigneusement lavé à l'eau. Le filtrat renferme encore une forte quantité de saligénol non transformé. Les eaux de lavage réunies sont distillées à un petit volume, le distillat présente une réaction très faiblement acide due à de petites quantités de saligénol entraînées.

Les traités de chimie organique indiquent que les alcools phénols ne sont pas entraînés à la vapeur d'eau alors que les phénols le sont : l'exemple du saligénol montre qu'il n'en est pas *absolument* ainsi.

Le distillat ne renferme pas d'acide formique ; le résidu de

la distillation dilué avec de l'eau, nous démontre l'absence d'acide oxalique.

CONCLUSIONS. — 1° La poudre fermentaire de *Salix purpurea* renferme une oxydase qui nous apparaît comme différente de la laccase et de la tyrosinase.

2° La transformation du saligénol en pyrocatéchol par cette poudre fermentaire nous semble bien peu probable.

a) Cette transformation nécessite la présence de l'oxygène (v. p. 196) ; une oxydation devrait donc se produire ; il y aurait dégagement à partir du saligénol d'un corps oxydé, par exemple CO_2 , acide oxalique, formique ; au cours du processus de noircissement du saligénol aucun de ces produits n'a été isolé ; la quantité de CO_2 dégagée est très faible.

b) L'oxydation du saligénol et celle du pyrocatéchol par la poudre fermentaire sont très différentes ; l'oxydation du saligénol est 3 fois plus rapide que celle du pyrocatéchol, elle dégage 3 fois moins de CO_2 ; les produits d'oxydation présentent une odeur typique d'aldéhyde salicylique dans le cas du saligénol, pas d'odeur dans le cas du pyrocatéchol.

c) L'oxydation du saligénol n'a jamais été complète, mais en fin d'expérience, nous avons pu récupérer le saligénol non oxydé ; il présente tous les caractères du saligénol pur.

Causes du noircissement des feuilles de *Salix purpurea* et de nombreuses Salicacées.

Le pyrocatéchol existe certainement dans les feuilles et les jeunes rameaux de *Salix Purpurea*, ainsi que l'a montré WEEVERS et comme nous avons pu le vérifier nous-mêmes, mais en très petites quantités ; de plus, au cours de l'autolyse des feuilles et des jeunes rameaux, il y a diminution importante du salicoside ; du saligénol est mis en liberté.

Nous avons montré que le saligénol est oxydable par une saligénoloxydase contenue dans les feuilles de *Salix Purpurea* en fournissant un produit noir.

WEEVERS chauffant à 85° le liquide fermentaire de *Salix Purpurea* constate que le pyrocatéchol noircit encore alors que le saligénol est inattaqué ; d'après nous, il y aurait une pyrocatécholoxydase plus résistante que la saligénoloxydase, alors que WEEVERS pense que pendant ce chauffage, c'est la saligénolase,

ferment capable de transformer le saligénol en pyrocatéchol, qui est détruite.

Remarquons que seuls noircissent chez les Salicacées les organes qui renferment du salicoside ; toutes les feuilles de *Salix* et *Populus* qui contiennent du salicoside sont susceptibles de noircir par autolyse, plus ou moins intensément suivant la quantité de salicoside et, surtout, suivant l'activité des ferments oxydants ; un cas particulièrement intéressant est celui du *Salix nigricans*, dont le nom rappelle le noircissement intense des feuilles ; l'étude des oxydases chez cette espèce nous a montré que le noircissement se produit par un processus identique à celui du *Salix Purpurea*. Nous avons également remarqué, que les rameaux jeunes noircissent intensément ; ils renferment encore du salicoside ; les rameaux plus âgés ne présentent plus le phénomène ; ils ne contiennent plus de salicoside ; ils renferment encore du pyrocatéchol ainsi que nous l'avons montré (v. p. 153). Le noircissement observé chez les Salicacées est peut-être redevable pour *une très faible part* à l'oxydation du pyrocatéchol libre par la pyrocatécholoxydase ainsi que l'a montré WEEVERS. Mais il me semble que la principale cause du noircissement consiste en l'oxydation directe par la saligénoloxydase et l'oxygène, du saligénol libéré par l'action de la salicase sur le salicoside des organes.

La nature du produit noir ainsi formé nous est inconnue.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

L'analyse de 26 espèces bien définies du genre *Salix* et de 2 espèces du genre *Populus*, m'a permis de retirer ou de caractériser le *saccharose* dans un très grand nombre de cas, qu'il s'agisse des feuilles ou des écorces.

Dans toutes les espèces examinées, sauf deux (*Salix Triandra* et *arbuscula*), j'ai caractérisé et isolé le *salicoside* ; mais alors que certains saules renferment du salicoside dans leurs feuilles et dans leurs rameaux, d'autres n'en contiennent que dans les feuilles. Les rameaux âgés de neuf saules contiennent presque uniquement du *picéoside* au lieu de salicoside.

Ainsi, dans le *Salix nigricans*, le salicoside existe dans les feuilles et les pétioles, le picéoside dans les écorces âgées ; le salicoside n'existe qu'en petite quantité dans les rameaux jeunes et la proportion de cet hétéroside par rapport au picéoside diminue rapidement avec l'âge de l'organe. L'examen de *Salix retusa*, *serpyllifolia*, *reticulata*, *phylicifolia*, *grandifolia* et *glauca* m'a montré une distribution des hétérosides semblable à celle de *Salix nigricans* pris pour type.

La *salinigrine* et la *salicinéréine* sont identiques au picéoside qui se rencontre ainsi dans trois familles : *Conifères*, *Rosacées*, *Salicacées*.

Le *populoside*, dérivé benzoylé du salicoside, existe dans de nombreux *Populus* et chez le *Salix purpurea* ; je l'ai isolé de 4 espèces où il n'avait pas été signalé ; des rameaux de *Populus nigra* et de *Salix incana*, *daphnoïdes* et *pentandra*. Les hétérosides de *Salix* et de *Populus* présentent donc une grande homogénéité.

Le *saliréposide*, découvert par M. N. WATTIEZ, dont j'ai poursuivi l'étude, présente de remarquables analogies avec le populoside ; c'est un *oxypopuloside*. Il est curieux que cet hétéroside nouveau, soit accompagné dans la plante par du salicoside et non par le saliréposide débenzoylé comme cela se passe pour le populoside.

Il existe un hétéroside analogue au salidroside du *Salix Triandra* dans l'écorce de *Salix arbuscula*. Je n'ai pu retirer le salicoside de ces deux espèces qui occupent ainsi une place à part dans le genre *Salix*.

Des hétérosides flavoniques ont été découverts et étudiés dans les feuilles de *Salix purpurea*, *incana*, *nigricans*. Je les ai décelés dans quelques autres espèces sans en entreprendre une étude spéciale. Il n'a pas été possible d'identifier ces produits avec les flavonolosides connus.

La composition chimique de *Salix Purpurea* a longuement retenu mon attention, cette espèce ayant fait l'objet de travaux physiologiques importants. En collaboration avec M. C. CHAURAUX, j'ai démontré la présence, dans les écorces, de deux hétérosides nouveaux ; le *salipurposide* et l'*isosalipurposide* dont j'ai établi la constitution et souligné les rapports avec le *naringoside*, l'*isohespéridoside* et les hétérosides flavoniques.

Les hétérosides de *Salix Purpurea* sont très variés :

Les feuilles renferment : flavopurposide, salicoside, populoside ; les jeunes rameaux : salicoside, populoside, salipurposide ; les rameaux âgés : salicoside, salipurposide et isosalipurposide.

Les rameaux ♂ et ♀ de *Salix Purpurea*, ont dans les mêmes conditions, des compositions glucidiques très semblables. Le taux des glucides des rameaux (saccharose et hétérosides) diminue au début de la végétation sans qu'on puisse exactement savoir quels hétérosides sont hydrolysés et dans quelles proportions.

L'étude des travaux sur la signification physiologique des hétérosides chez les *Salicacées* montre qu'on ne peut tenir aucun compte des travaux de JOWETT et POTTER sur cette question. Les conclusions de WEEVERS présentent des erreurs considérables, qui tiennent, d'une part à l'imperfection des méthodes, d'autre part à l'ignorance par cet auteur de la composition glucidique exacte de *Salix Purpurea* sur lequel porte les expériences. Nous avons vu quelle complexité présente l'étude de cette plante qui renferme cinq hétérosides différents.

L'étude des ases contenues dans les feuilles de *Salix Purpurea* termine nos recherches. Si, comme l'admettent WEEVERS, ARMSTRONG et SIGMUND, ces feuilles hydrolysent bien le salicoside, elles hydrolysent également les autres glucosides β . Il y a seulement une différence de vitesse d'hydrolyse entre les glucosides de phénols et les glucosides d'alcool, qui ne sont que lentement attaqués.

L'hydrolyse du salicoside par la poudre fermentaire de *Salix purpurea* en glucose et saligénol s'accompagne de la formation synthétique de salicylglucoside β (29 p. 100 du salicoside hydrolysé). Nous avons institué une série d'expériences qui démontrent que l'hydrolyse des hétérosides β de phénols par la poudre fermentaire en présence d'un alcool s'accompagne d'une synthèse importante d'hétéroside d'alcool. Le glucose naissant libéré par l'hydrolyse se combine à l'alcool en présence de la poudre fermentaire. Cette réaction n'est pas identique à la réaction de synthèse des glucosides d'alcools par l'émulsine : l'état d'équilibre est très différent : dans l'alcool méthylique à 3 p. 100, 57 p. 100 du glucose sont transformés en méthylglucoside β alors que, dans les mêmes conditions, l'émulsine ne combine que 6 p. 100 du glucose.

La structure chimique du *glucose naissant* nous est inconnue : ces expériences permettent d'expliquer la synthèse des hétérosides d'alcool chez les végétaux.

Le processus de noircissement des feuilles de nombreuses Salicacées au cours de l'hydrolyse est dû à l'action d'une oxydase et de l'oxygène, sur le saligénol. Le saligénol, libéré par l'hydrolyse du salicoside, ne semble pas transformé de façon intermédiaire en pyrocatéchol avant de subir l'oxydation qui fournit le composé noir des feuilles de Saules ou de Peupliers.

DEUXIÈME THÈSE.

Proposition donnée par la Faculté :

LES ANHYDRIDES D'OSE

Vu-et approuvé :

Paris, le 10 Novembre 1934.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER
